علم الأحياء الدقيقة

دكتور
حمزة محمد محمد السيد النحال
بكالوريوس وماجستير في علوم الأغذية
جامعة عين شمس - القاهرة
دكتوراه في الأحياء الدقيقة
جامعة كاليفورنيا - ديفز
أستاذ مشارك بجامعة الملك فيصل بالأحساء
بالمملكة العربية السعودية



١٩٨٧
توزيع دار المعارف بالقاهرة

علم الأحياء الدقيقة

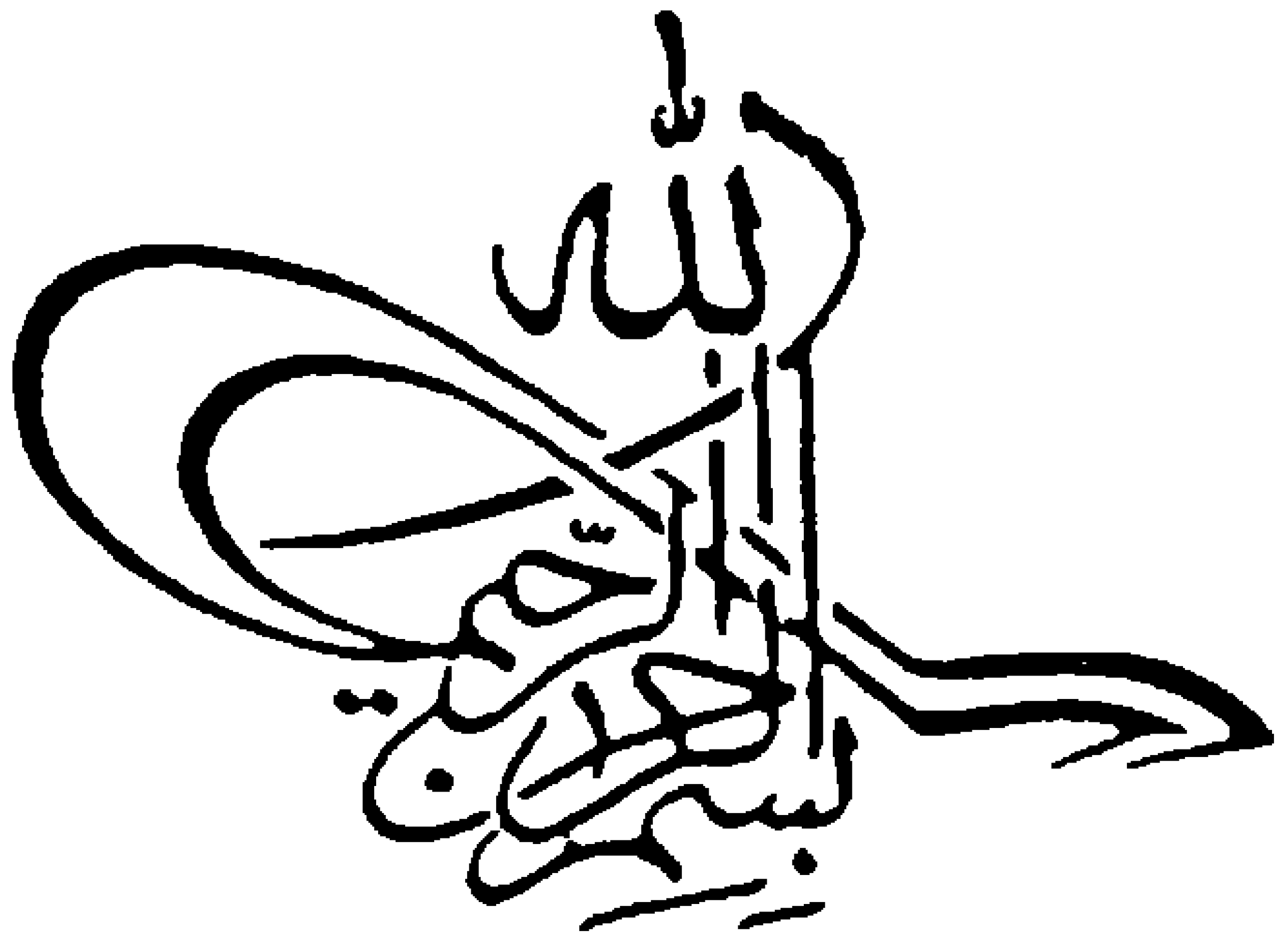
دكتور

حمزة محمد محمد السيد النحال

بكالوريوس وماجستير في علوم الأغذية
جامعة عين شمس - القاهرة
دكتوراه في الأحياء الدقيقة
جامعة كاليفورنيا - ديفز
أستاذ مشارك بجامعة الملك فيصل بالاحساء
بالمملكة العربية السعودية

١٩٨٧

تليفون : ٣٦٣٢٨٧١
٨٤٩١١٠ القاهرة



إلى أعتاب :

رسول الله صلى الله عليه وسلم

معلم البشر

تقديم الكتاب

بسم الله الذي علم الانسان ما لم يعلم ·

أتقدم بهذا الكتاب للزملاء والدارسين والمهتمين بعلوم الأحياء الدقيقة ، وأقدمه للمكتبة العربية آملا أن أضيف اليها جديدا مما توصلت اليه العلوم والأبحاث في تلك المجالات ···

وهذا الكتاب – بفصوله العشرين – قسم الى سبعة أبواب هي :

١) علم الأحياء الدقيقة وتطوره وطرق دراسته وأهميته ·
٢) الأحياء الدقيقة حقيقية النواة ·
٣) الأحياء الدقيقة بدائية النواة ·
٤) نمو وتكاثر الأحياء الدقيقة الخلوية ·
٥) علم الفيروسات العام ·
٦) الفيروسات البكتيرية ·
٧) وراثة الأحياء الدقيقة وبيولوجيتها الجزيئية ·

وقد قمت باعداد حصيلة تجارب في التدريس والأبحاث في هذه المجالات لأكثر من عقدين من الزمان ، وقد استغرقت أكثر من أربعة أعوام من العمل المكثف لكتابة هذا الكتاب · ولقد كان لتشجيع الكثير من اخواني أعضاء هيئة التدريس وأبنائي الطلاب أكبر الأثر في الاستمرار حتى النهاية ··· ولا أزعم أنني قد حققت الغاية وبلغت الكمال ، فالكمال لله وحده ، ولو أنني كتبت كل ما أردت من عرض شامل للأبحاث العديدة التي تنشر يوميا ، لما قدر لهذا الكتاب أن يكون أمام القارئ الآن ·

ولقد تعمدت عدم الكتابة في موضوع التمثيل الغذائي بجانبيه البناء والهدم على أمل أن أكتب كتابا آخر يعالج هذا الموضوع ·

ونظرا لحداثة عهد هذا العلم ، فقد واجهت بعض الصعاب في تعريب بعض المصطلحات الفنية . ولقد راجعت العديد من الكتب العربية للاستفادة من خبراتها واختيار أكثر الاصطلاحات العربية شيوعا قدر الامكان . ولقد استفدت كثيرا ممن سبقوني في هذا المجال ، ولكن بقي على ايجاد بعض المصطلحات العربية الجديدة للتعبير عن ما يقابلها بالانجليزية ، ولذلك فقد استعملت الاصطلاح الانجليزي بجوار الاصطلاح .

وعلى قدر علمي بذلت جهدي في تبسيط المعلومات باستخدام أسهل التعبيرات مع تزويد الكتاب بالأشكال التوضيحية كلما كان ذلك ممكنا. ورغم أن هذا الكتاب قد أخذ مني أكثر من أربعة اعوام من العمل الدؤوب فان معظم مادته العلمية قد جمعت من عدد كبير من الكتب والمطبوعات العربية والانجليزية . وقد حرصت على وضع قائمة بالمراجع التي استخدمتها أثناء اعداد هذا الكتاب في نهايته — وقد رأيت جمع هذه المادة العلمية على هذه الصورة بعد سنوات عديدة من تدريس مقرر الأحياء الدقيقة بجامعة الملك فيصل بالاحساء.وقد شمل الكتاب كثيرا من المعلومات التي لا اتطرق اليها في محاضراتي ولكني جمعتها للاجابة على تساؤلات كثير من طلابي التي وردت الي بين الحين والآخر.

وأملي أن أنال بهذا الكتاب رضى الله ثم رضى القارئ وذلك هو حسبي على كل مابذلت من جهد.آملا أن يكون هذا الكتاب مفيدا ونافعا للدارسين والباحثين في هذا المجال . على أنني ألتمس العذر عن هنات بغير قصد أو أخطاء بغير تصويب.

ولا يسعنى الا أن اتوجه بالشكر لله سبحانه وتعالى على توفيقه ثم للمسئولين فى جامعة الملك فيصل وعلى رأسهم معالى مدير الجامعة على ما قدموه لى من تسهيلات لانجاز هذا الكتاب . كما لا يفوتنى أن أتوجه بالشكر للاستاذ الدكتور حسين محمد العروسى العميد الأسبق لكلية العلوم الزراعية والأغذية على مراجعته للأبواب الثلاثة الأولى، وكذلك أتوجه بالشكر للأستاذ الدكتور السيد أحمد سلامه والأستاذ الدكتور محمد عبد الحميد شلبى على مراجعتهم للأبواب الثلاثة الأخيرة من هذا الكتاب . كما اننى أوجه شكرا خاصا للأستاذ سمير الطوبجى صاحب مكتبة ومطبعة الطوبجى بالقاهرة ومعاونوه على ما بذلوه من جهد مخلص فى طباعة هذا الكتاب . وهناك العديد ممن قدموا لى النصح المشورة والمساعدة والتشجيع وقت هبوط الهمم أثناء اعداد هذا الكتاب والذيق لا يمكن حصرهم فى هذا المجال فلهم جميعا منى خالص الشكر والتقدير .

و لله وحده الكمال وهو ولى التوفيق ،

المؤلف

د . حمزة النخال

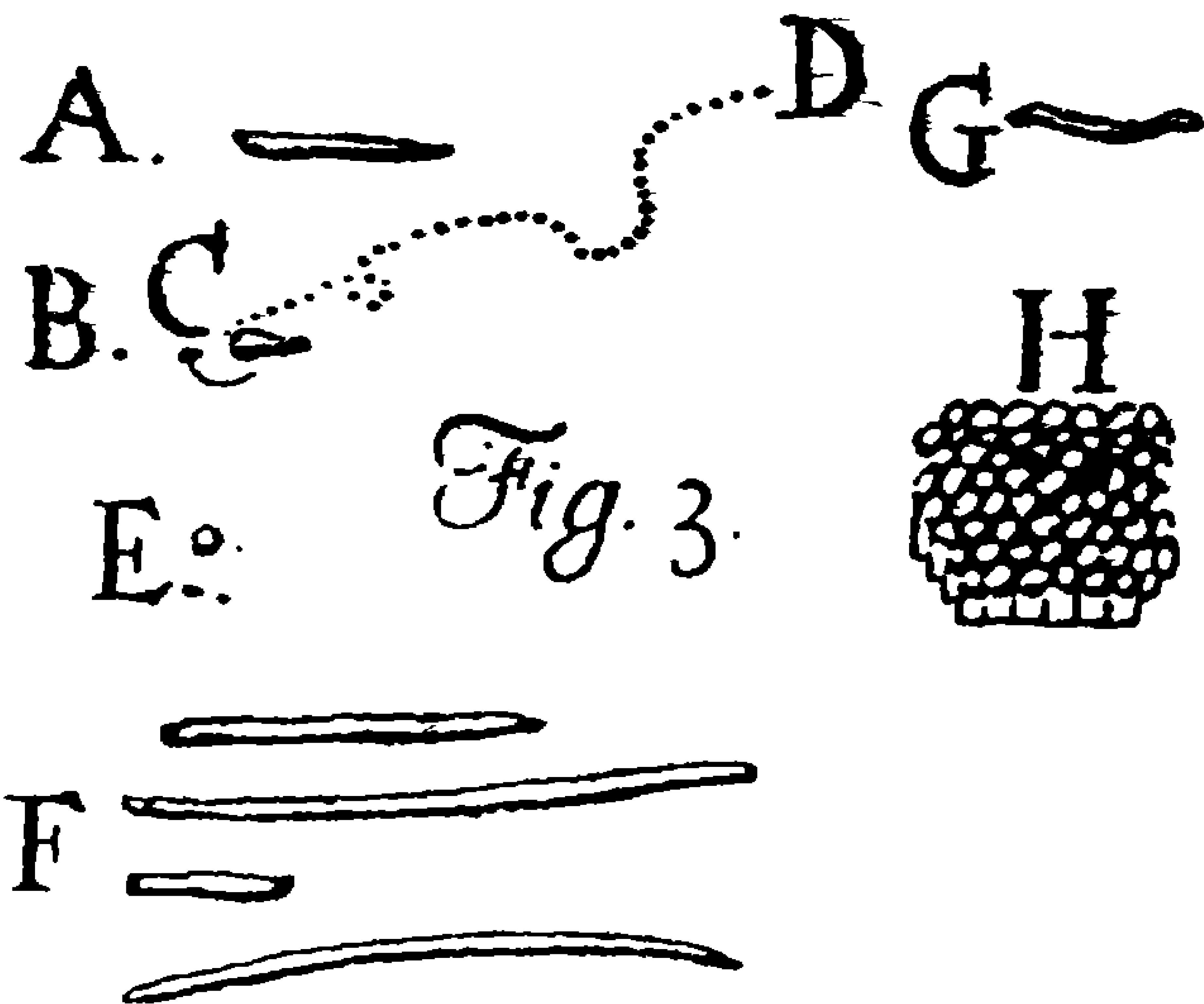
الباب الأول

تطور علم الأحياء الدقيقة وأهميته وطرق دراسته

الفصل الأول : علم الأحياء الدقيقة وتطوره .

الفصل الثاني : أهمية دراسة الأحياء الدقيقة .

الفصل الثالث : طرق دراسة الأحياء الدقيقة .



الفصل الأول

علم الأحياء الدقيقة وتطوره

علم الأحياء الدقيقة (الميكروبيولوجيا Microbiology هو العلم الذى يختص بدراسة الكائنات الحية (الدقيقة) التى بلغت من الصغر حدا لا يمكن معه رؤيتها بوضوح بالعين المجردة . ولما كانت العين البشرية لا تستطيع أن ترى الأشياء التى قطرها ١ر٠ مليمتر أو أصغر، ولا تستطيع تمييز تفاصيل الأشياء التى قطرها ١ ملليمتر، فانه يمكن بصفة عامة اعتبار الكائنات الحية الدقيقة هى الكائنات التى لها قطر مقداره ١ ملليمتر أو أصغر .

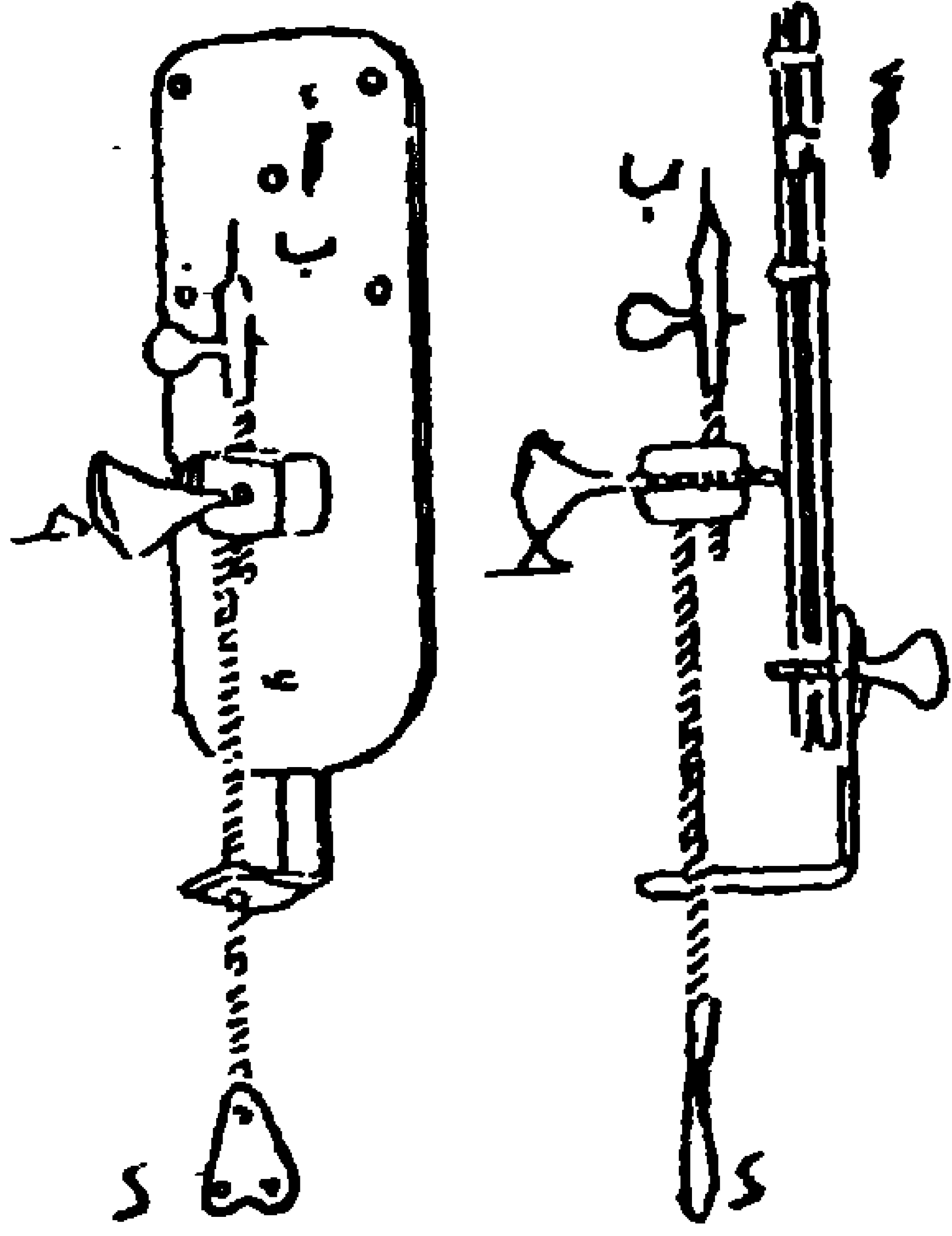
وهذا التعريف يشمل كائنات حية تتبع تقسيمات مختلفة فى عالم الأحياء ولا يمكن تمييزها بوضوح بالعين المجردة، كما أشرنا سابقا . ويلزم لرؤيتها أو معرفة تفاصيل تركيبها استعمال المجهر (الميكروسكوب Microscope)، وهذه الكائنات هى البروتوزوا protozoa وبعض الميتازوا Metazoa والطحالب Algae والفطريات Fungi (من الأحياء الدقيقة ذات النواة الحقيقية Eucaryotes) والبكتيريا والسيانوبكتيريا (من الأحياء الخلوية ذات النواه البدائية Procatyotes) كما أنها تشمل أجساما حية ليس لها تركيب خلوى كالفيروسات والفيرويدات .

ولم تكن هذه الأحياء معروفة قبل تطور صناعة العدسات، وذلك مقارنة بالأحياء الأخرى التى يمكن رؤيتها بالعين المجردة، وان كان بعض العلماء قد تكهنوا بوجود أحياء دقيقة . فقد اقترح فراكاستورو Fracastoro (١٤٥٥ـ١٥٥٣م) أن الأمراض قد ترجع الى كائنات خفية غير مرئية يمكنها أن تنتقل من شخص الى آخر . ولم يتم التعرف على وجود هذه الكائنات الحية الدقيقة (الميكروبات Microbes) الا بعد اكتشاف المجهر . ويرجع الفضل فى اكتشاف المجهر الى صانع العدسات الهولندي الشهير أنتونى فان ليفنهوك

وكان أول مجهر صنعه Antony Van Leeuwenhoek عام ١٦٧٢ ٠ ليفينهوك عبارة عن عدسة مكبرة مركبة على أجزاء معدنية (شكل ١-١) ولقد صنع ليفنهوك منها حوالى مائتين وخمسون (٢٥٠) مجهرا يكبر الواحد منها بين ٥٠ الى ٣٠٠ مرة ٠

ومجاهر ليفنهوك بسيطة لا يمكن مقارنتها بمجاهر اليوم، فالمجاهر الضوئية التى يستخدمها الطلاب اليوم فى المختبرات يتكون الواحد منها من عدة عدسات تستطيع التكبير حتى ألف (١٠٠٠) مرة ، مع وجود مزايا خاصة تسمح بالرؤية على ثلاث محاور ٠ ولقد اكتشف ليفنهوك بمجهره كثيرا من الأحياء الدقيقة (شكل ١-٢) ولم يكن يعرف عنها شيئا ٠ وقد رسم ليفنهوك هذه الأحياء الدقيقة ودون ملاحظاته عنها بدقة ، وأرسلها الى الجمعية الملكية بلندن Royal Society in London بعد فحص عينات كثيرة من مياه الأمطار ومياه الآبار والخل والافرازات والبقايا المتحللة الموجودة على الأسنان ، وكذلك فقد فحص كثير من البذور وأجنة النباتات وكثير من الحيوانات الأولية ٠ ولقد لاقت ملاحظات ليفنهوك ورسوماته اهتماما بالغا فى الجمعية الملكية بلندن - وهى الهيئة العلمية الأولى فى ذلك الوقت التى عملت على نشر البحوث وتبادلها بين العلماء ، وأن لم يدرك أحد فى ذلك الوقت أهمية اكتشاف ليفنهوك٠ وعموما فان الدراسات الميكروبيولوجية التى جاءت قبل بحوث باستير كانت تجرى لاشباع رغبة الباحثين ، وذلك بقيامهم بالبحوث من الناحية العلمية البحتة ، فشملت دراسات بيئية ومورفولوجية وتقسيمية (ومدى قرابة هذه الكائنات للأحياء الراقية) دون التعرض لأهميتها الاقتصادية ٠

ولقد ترك اكتشاف الأحياء الدقيقة بواسطة ليفنهوك أثرا عظيما فى نفوس العلماء ، فعكف الكثير منهم على دراستها ٠٠ ومن أهم هؤلاء شوان Schwann الذى اكتشف فى عام ١٨٣٧م أن خلايا الخميرة (وهى كائن حى يتبع قسم الفطريات) هى السبب فى التخمر الكحولى الذى يحدث للمحاليل السكرية فينتج الكحول وثانى أكسيد الكربون CO_2 وعلل حدوث التخمر بأن خلايا الخميرة كانت دائما موجودة أثناء التخمر



شكل ١ ـ١ : رسم توضيحى لواحد من مجاهر ليفنهوك.

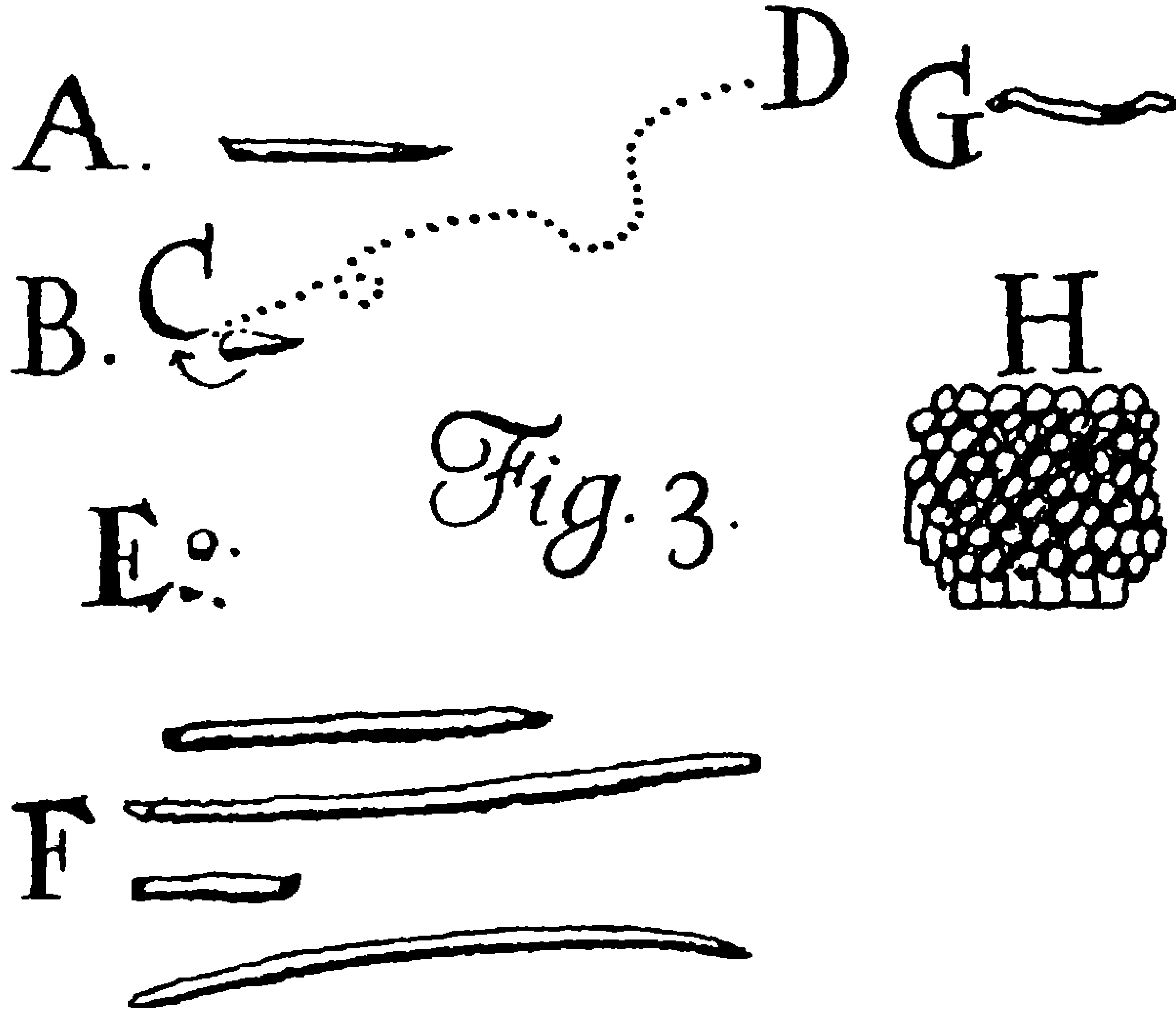
أ ـ عدسة مكبرة .

ب ـ السن المخصص لوضع العينة .

جـ ـ مفتاح ضبط

عن دوبل Doball

Antonie van Leeuwenhoek and his Little animals. Russell and Russell, Inc. 1932, New York



شكل ١ ـ٢ : رسومات ليفنهوك التوضيحية للبكتريا والتى نشرت عام ١٦٨٤م. ومن هذه الرسومات المبدئية يمكن تمييز بعض أنواع البكتريا الشائعة.

A و C و F و G عبارة عن بكتريا عصوية.

E بكتريا كروية دون تجمعات. H بكتريا كروية فى تجمعات عنقودية.

Antonie van Leeuwenhoek. 1684. Phil. Trans. Roy Soc, London 14:568

وأن اهلاك هذا الكائن الحي يوقف التخمر ، وهذه ما تعرف بالنظرية الميكروبية Germ Theory كان ليفنهوك من أنصارها ٠٠ وللأسف فان هذه النظرية قد لاقت معارضة جبارة من فطاحل العلماء في ذلك الوقت ، وكان معظمهم كيميائيين وطبيعيين ، فمالوا الى تغسير هذه الظاهرة من الناحية الكيميائية ، وفسروا ما حدث بأنه تحليل كيميائي ، وكان من بين هؤلاء العلماء ليبيج Leibig وبرزيليوس Berzeleus وفوهلر Wohlar وغيرهم ٠٠٠ والذين كانوا يؤيدون نظرية التوالد الذاتي Spontaneous Generation Theory.

نظرية التوالد الذاتي

Spontaneous Generation Theory

قام أرسطو Aristole في خلال الفترة بين ٣٨٤ـ٣٢٢ قبل الميلاد بتلقين تلاميذه أن بعض الحيوانات الصغيرة قد تنشأ مباشرة من الأرض أو النباتات أو غيرها من الأشياء التي لا تمت للحيوانات بصلة ٠ كما أن تعاليمه هذه ظلت سائدة حتى القرن السابع عشر الميلادي ٠

وقد أشار فيرجيل Vergil (عام ٧٠ـ١٩ قبل الميلاد) الى التكاثر الصناعي للنحل ، وظل هذا الاعتقاد سائدا حتى القرن السابع عشر أيضا ٠ كما كان من المسلم به أيضا أن الديدان التي تتواجد باللحم بعد تعفنه تنشأ من اللحم نفسه ، اذا ما ترك معرضا للهواء في مكان دافئ ٠ وظلت هذه الاعتقادات راسخه في الأذهان الى أن أتى اكتشاف الكائنات الحية الدقيقة التي جددت اهتمام العلماء لمعرفة منشأ الكائنات الحية عموما وهو الموضوع الذي أثار كثيرا من الجدل ٠

فقد قام العالم فرانسسكو ريدي (١٦٢٦ ـ ١٦٩٧م) Francisco Redi. بتجربة وضع فيها اللحم في وعاء محكم الغطاء ، وأمكنه رؤية الذباب وهو يضع البيض على غطاء الوعاء مجذوبا اليه من رائحة اللحم ، وأمكن له معرفة أن الديدان تنشأ عن هذا البيض نتيجة

لنفسه . وبمثل هذه التجارب وغيرها أمكن معرفة منشأ بعض الكائنات الحية الراقية ، ولكن ظل الأمر كما هو بالنسبة للميكروبات ، حيث أن مثل هذه الكائنات الدقيقة الحجم طبقا للاعتقادات القديمة أولى من غيرها في أن تنشأ من العدم أو من أي شيء آخر .

وهكذا ظلت نظرية التوالد الذاتي بين مؤيد ومعارض على مدى فترة زمنية طويلة . ففي عام ١٧٤٩م قام جون نيدهام John Nedham بتعريض اللحم الي رماد ساخن ، وأمكنه مشاهدة كائنات دقيقة لم تتهيأ له مشاهدتها باللحم عند ابتداء التجربة ، وأن هذا دفعه لاستنتاج أن هذه الكائنات نشأت من اللحم مباشرة . وفي نفس الوقت تقريبا قام سبلانزاني Spallanzani بغلي مرق اللحم بدورق زجاجي لمدة ساعة ثم قام بسد فوهته ، وأثبت أنه لم ينشأ به فيما بعد أي كائنات دقيقة . ومثل هذه التجربة التي قام بتكرارها أكثر من مرة لم تقنع غيره من باحثي عصره ، وعلى رأسهم نيدهام الذي أصر على أن وجود الهواء أمرا لابد منه لنشوء الكائنات الدقيقة من المرق نفسه ، ولم يكن ذلك متوافرا نتيجة للحام الدورق . وظل هذا الأمر معلقا لم يحسم الا بعد حوالي ٦٠ أو ٧٠ عاما أخرى عندما قام كل من فرانز شولز (١٨١٥ ـ ١٨٧٣م) Franze Schulze وثيودور شوان Theodor Schwann (١٨١٠ ـ ١٨٨٢م) كل بطريقته الخاصة بدراسة دور الهواء في نشوء البكتريا بالمرق المغلي . فقد مرر شولز الهواء خلال المرق المغلي بعد تمريرة خلال محلول من أحد الأحماض القوية . كما قام شوان بتمرير الهواء خلال المرق المغلي بعد تمريره خلال أنابيب مسخنه لدرجة الاحمرار . وفي كلا الحالتين لم يظهر بالمرق ميكروبات بالرغم من وجود الهواء . ولكن رغم هذا قاومت نظرية التوالد الذاتي كل من حاول اثبات عدم صحتها ، حيث قيل في ذلك الوقت أن تمرير الهواء في الحمض أو خلال أنبوبة مسخنة لدرجة الاحمرار يفسد هذا الهواء بدرجة تجعله لا يصلح لنشوء البكتريا من المرق .

وفي حوالي ١٨٥٠م قام شرودر Schroeder ودتش Dutch مشتركين باجراء تجربة أكثر اقناعا للعلماء في هذا الوقت ، وذلك بتمرير

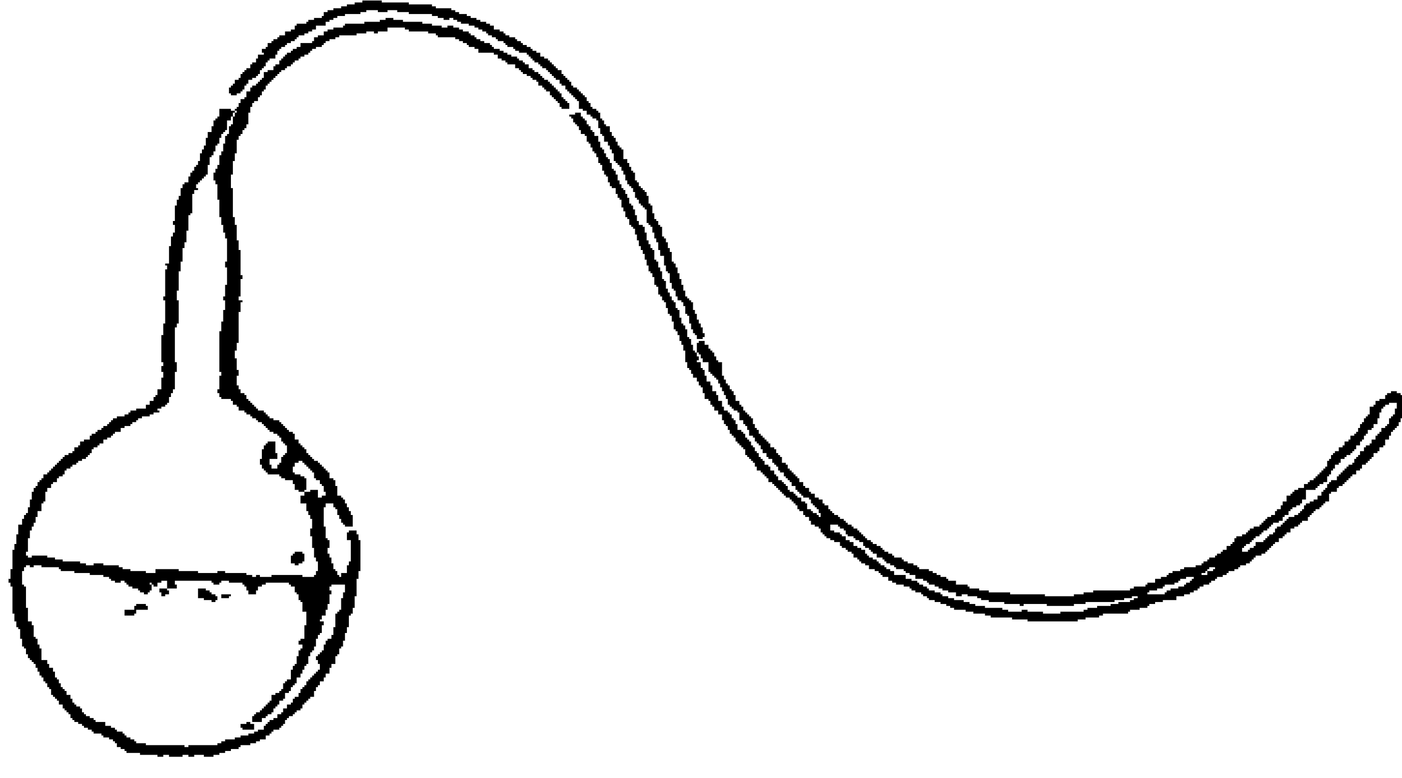
الهواء خلال انبوبة محتوية على كمية من القطن قبل تمريرها فى المرق المغلى ، حيث أن القطن أدى - فى هذه الحالة - وظيفة حجز الأحياء الدقيقة من الهواء المار . ومن هنا بدأ استعمال السدادات القطنية فى قفل الأوعية المحتوية على مزارع الأحياء الدقيقة ومع ذلك لم تهدم نظرية التوالد الذاتى ، بل العكس من ذلك .. فقد قام بوخيت (١٨٥٩م) Pouchet بتقديم أدلة جديدة على صحتها .

ثم جاء باستير (١٨٦٤م) Louis Pasteur (١٨٢٢ - ١٨٩٥م) الذى يعتبر الأب الحقيقى لعلم الأحياء الدقيقة ، وصمم تجربتين قدما دليلا قاطعا على عدم صحة نظرية التوالد الذاتى ، وبذلك قضى على هذه النظرية قضاء مبرما .

فى التجربة الأولى ، قام باستير بتجهيز دورقا ذا رقبة طويلة ملتوية وضيقة الفتحة Swan neck flask (شكل ١-٣) يحتوى على مرق مغلى ولم يقم بمعاملة الهواء أو بترشيحه بأى طريقة من الطرق حيث يمكن للهواء المرور خلال الأنبوبة ، ولكن محتوياته من الميكروبات تترسب خلال مرورها نظرا لطول وضيق عنق الدورق ، وبهذه الطريقة لم يظهر بالمرق أى كائنات حية دقيقة . وقام باستير بنشر نتائجه هذه فى جامعة السوربون عام ١٨٦٤م .

وفى التجربة الثانية قام بترشيح كميات كبيرة من الهواء خلال قطن البنادق Gun Cotton القابل للذوبان فى مخلوط من الكحول والايثير Ether وفحص البقايا المتبقية بعد ذوبان القطن فوجد فيها أجسام كروية وبيضاوية تشبه تلك الميكروبات الشهيرة تماما . وبذلك أثبت أن الكائنات الدقيقة لا يمكنها التواجد بدون آباء تشبهها ، وبمعنى آخر أنها لا تنشأ من العدم أو اللحم المتحلل أو أى مادة أخرى .

وقبل أن نبدأ الكلام عن النظرية الميكروبية ينبغى لنا الاشارة الى بعض الاكتشافات الأخرى لباستير .. فلم تقتصر اكتشافات باستير على هدم نظرية التوالد الذاتى ، وهو العالم الكيميائى أساسا ، بل



شكل ١ ـ ٣ : رسم توضيحى للدورق ذو الرقبة الملتوية الذى استخدمه باستير فى اثبات عدم صحة نظرية التوالد الذاتى .

ان باستير وضع كثيرا من الأسس لهذا العلم الذى نحن بصدد دراسته . فقد بدأ لويس عمله كأستاذ للكيمياء بجامعة ليل Lille Universitry بفرنسا . ولما كانت فرنسا تشتهر فى ذلك الوقت بصناعة النبيذ والبيرة ، فقد قام باستير بدراسة التخمر الكحولى للفاكهة والحبوب والذى يحدث نتيجة لفعل الكائنات الدقيقة . وتمكن من الحصول على نبيذ أو بيرة ذات طعم ثابت من دفعة لأخرى نتيجة لاختيار سلالات معينة من الكائنات الدقيقة ذات صفات مرغوبة ثم ادخال طريقة البستره لقتل الكائنات الدقيقة الملوثة للعصير قبل التخمر ، وهى كائنات غير مرغوبة كانت تسبب ما أسماه بأمراض النبيذ أو أمراض البيرة ، وبذلك كان باستير أول من ربط بين كلمة أمراض والكائنات الدقيقة التى تسببها . أما عملية البسترة Pasteurization (المشتقة من اسمه) وهى تسخين العصير على درجة ١٤٥° ف لمدة ٣٠ دقيقة فقد شاع استعمالها بعد ذلك فى الألبان وعصائر الخضر والفاكهة الطازجة لمنع انتشار الأمراض .

وقد أدى نجاح باستير فى حل مشاكل صناعة النبيذ بفرنسا بأن كلفته الحكومة بدراسة مرض ديدان الحرير والتى كانت تستعمل فى انتاج وصناعة الحرير بفرنسا . وبعد عمل استمر عدة سنوات تمكن من عزل الطفيل ، وهو من البروتوزوا ، والذى يسبب مرض الببرين Pebrine لديدان الحرير . قد نصح باستير مربى هذه الديدان للتغلب على هذا المرض باستعمالهم سلالات ناتجه من مزارع نقية خالية من المرض . ثم درس باستير بعد ذلك مرض الجمرة الخبيثة Anthrax حيث حاول عزل الميكروب المسبب . وقد قام كوخ Koch (١٨٤٣ ـ ١٩١٠م)

بدراسة هذا الميكروب وتوصل للفروض الأربعة المعروفة باسم فروض كوخ Kochś postulates والتى بدأ بها العصر الذهبى لعلم الميكروبيولوجيا الطبية Medical microbiology . وفى عام ١٨٨٠ تمكن باستير من عزل الميكروب المسبب لمرض الكوليرا فى الدواجن ، وتمكن من تنمية هذا الميكروب فى مزارع نقية ، وقام بتطبيق فروض كوخ باجراء العدوى الصناعية عدة مرات حدثت فيها العدوى والوفاة . ولكنه لاحظ أن بعض الدواجن المحقونة لم تصب بالعدوى أو تموت . وعندما حاول معرفة السبب فى ذلك توصل الى أنه استعمل مزارع بكتيرية عمرها عدة أسابيع بدلا من استعمال مزارع حديثة العمر .

وكان هذا بداية لوضع أسس احداث المناعة Immunization ضد الأمراض ووضع أسس لعلم جديد وهو علم المناعة Immunology فقام بتجربة استعمل فيها مجموعتين من الدواجن ، مجموعة سبق حقنها ببكتيريا من مزارع قديمة ، والمجموعة الثانية لم تحقن أفرادها من قبل واستعمل فى حقن المجموعتين بكتيريا من مزارع حديثة العمر . فوجد أن أفراد المجموعة الثانية أصيبت كلها بالمرض وماتت فى حين أن أفراد المجموعة الأولى كلها ظلت سليمة ولم تظهر عليها أى أعراض مرضية . وتوصل بذلك الى أن البكتيريا تفقد مقدرتها المرضية عندما تترك نامية على البيئات الصلبة ، ولكنها لا تفقد القدرة على تنبيه جسم العائل لانتاج مواد تعرف باسم الأجسام المضادة Antibodies والتى تقى العائل من الاصابات الأخرى بالكائنات التى لم تفقد قدرتها المرضية بعد .

وقد استغل باستير هذا الاكتشاف العظيم فى تحصين الماشية ضد (الحمى الفحمية) الجمرة الخبيثة ، فقد استعمل مزارع ضعيفة (أضعف قدرتها المرضية صناعيا) وأطلق عليها اسم الفاكسين (اللقاح) Vaccine وسميت عملية التحصين هذه Vaccination أو التطعيم .

وقد اشتهر باستير بقدرته الفائقة على علاج الأمراض ثم زادت مسئوليته عندما بدأ يواجه مشاكل مرتبطة بأمراض الانسان وهو رجل

كيميائى لم يسبق له دراسة الطب. ومع ذلك فقد استطاع انتاج فاكسين لعلاج الكلاب المسعورة .. والتى تحمل فى لعابها كائنا ما لم يمكن عزله فى المعمل ولم يمكن تنميته ولم يمكن رؤيته بالمجاهر المتوفرة آنذاك (وهذا الكائن نعرفة الآن .. وهو الفيروس المسئول عن داء الكلب Rabies) كما أمكن استخدام نفس الفاكسين لوقاية الأشخاص الذين قد يصابوا بهذا المرض نتيجة عضة من كلب مصاب بهذا الفيروس.

كما كان باستير أول من اكتشف وجود صور من الحياة تتم بدون هواء وسماها الحياة بدون هواء (اللاهوائية) ... وكان ذلك فى وقت اشتدت فيه سلطة الكيميائيين أمثال ليبج ولافوازيه الذين أوضحا أهمية الأكسجين للحياة فى الكائنات الراقية.

وقد أطلق باستير كلمة تخمر Fermentation على تحليل السكريات لا هوائيا بواسطة الكائنات الدقيقة ، كما أطلق كلمة تعفن Putrifaction على تحلل البروتينات لا هوائيا بواسطة الميكروبات.

النظرية الميكروبية

تفترض النظرية الميكروبية أن الكائنات المجهرية (الدقيقة) لا يمكنها أن تتواجد بدون آباء تشبهها ، أى أنها لا تنشأ من العدم .. وقد أثبت باستير ذلك بالدليل القاطع كما أسلفنا .

وقد استمرت الاكتشافات فى مجال الميكروبيولوجيا الطبية والمناعة بعد باستير وكوخ فاكتشف كلبس ولوفلر ١٨٨٤م Klebs and Loeffler ميكروب الدفتيريا واستطاعا انتاج سمومه فى البيئات الصناعية ، وقد استخدمت هذه السموم للتحصين ضد المرض . كما اكتشفت الميكروبات المسببة للكثير من الأمراض واكتشف كيفية الوقاية من تلك الأمراض ، وتم الكشف عن النظم الدفاعية التى يجابه بها الجسم الأحياء الدقيقة .

ولا تقتصر أهمية اكتشافات الأحياء الدقيقة على قدرتها على احداث الأمراض فقط . فقد اكتشف وينوجرادسكى ١٨٠٥ م Winogradsky أهمية الكائنات الدقيقة فى تثبيت الأزوت الجوى محولة اياه الى صورة صالحة لتغذية النبات ثم تبعه اكتشاف بايرينيك Beijerinck ١٩٠٠م فى اكتشاف أنواع أخرى من تلك الكائنات التى تثبت الأزوت الجوى .

وفى نهاية القرن التاسع عشر تمكن بوريل Burill عام ١٨٧٨ أن يتعرف على البكتيريا التى تسبب مرض اللفحة النارية فى أشجار الكمثرى والتفاح ، ثم قام العالم أوريـن سميث Erwin Smith بعد دراسة عدد كبير من الأمراض النباتية البكتيرية وعزل مسبباتها . وفى نفس الوقت أيضا قام هانسن Emil Hansen بوضع أسس التخمرات الصناعية ، فأوصى باستعمال المزارع النقية من الخميرة والبكتيريا (والتى نعرفها الآن باسم البادئات Starters) فى التخمرات الصناعية .

وكما أن اكتشاف الميكروبات لم يتم حتى تم اكتشاف المجهر ، فان اكتشاف طبيعة البكتيريا وانتسابها لعالم الأحياء ، وكذلك اكتشاف طبيعة الفيروسات لم يتم الا بعد اكتشاف المجهر (الميكروسكوب) الالكترونى Electrone Microscope فى منتصف القرن الحالى (العشرون) . ففى منتصف هذا القرن تم اكتشاف طبيعة الفيروسات غير الخلوية . كما تأكدت الفروق الجوهرية بين البكتيريا ، وهى كائنات ذات نواه بدائية Procaryotes والكائنات ذات النواه الحقيقية

Eucaryotes وتم بذلك فصل البكتيريا من المملكة النباتية نهائيا ، ووضعت في مملكة منفصلة سميت مملكة ذوات النواه البدائية Kingdom procaryotae لتميزها بعدم وجود غشاء نووى واختلاف تركيب الجدار الخلوى عن باقي الكائنات الحية الأخرى ، وكذلك عدد آخر من الصفات مثل تركيب الأسواط (الفلاجلات) Flagella وغياب كثير من الأعضاء الخلوية مثل الميتوكوندريا Mitochondria والكلوروبلاست وقيام الغشاء الخلوى بوظائف هامة فيها .

كما تم أيضا فصل الفيروسات من المملكة النباتية بصفة نهائية لكونها مخلوقات غير خلوية ، أى أنها ليس لها تركيب خلوى ، وتختلف بذلك عن الركتسيا Rickettsia ، فالركتسيا كائنات خلوية لها نواة بدائية ولها جدار خلوى يحتوى على الببتيد وجليكان ، وبذلك فهى بكتيريا حقيقية . أما الفيروسات فهى عبارة عن جسيمات Particles (وليست خلايا) تحتوى على حمض نووي مغلف بغلاف من البروتين وهي متناهية في الصغر بحيث لا ترى بالمجهر الضوئى العادى ، كما أنها تمر من المرشحات التى لا تسمح بمرور البكتيريا (المرشحات البكتيرية) لذلك تسمى أحيانا الرشيحات Filtratable viruses . وكلمة فيروس Virus مشتقة من الكلمة اللاتينية Venum وتعنى باللاتينية سائل سام . وقد كانت كلمة فيروس Virus تطلق فى الماضى على أى سائل يسبب مرضا سواء أكان سبب المرض بكتيريا أو فطر أو فيروس . وعندما اكتشفت البكتيريا وعلاقتها بالأمراض الناتجة عنها . اقتصرت كلمة فيروسات Viruses على تلك الكائنات التى لم يمكن رؤيتها بالمجهر الضوئى ، وقد اختلفت الآراء كثيرا فى كونها حية أو غير حية . ولكن معظم البيولوجيون الآن يتعاملون معها كأى كائن حى دقيق . وتدرس ضمن مقررات علوم الكائنات الحية الدقيقة Microbiology . وقد خصص لها حديثا علما قائما بذاته وهو علم الفيروسات Virology . علما بأن معظم البيولوجيون يترددون كثيرا فى الافصاح صراحة على أن الفيروسات عبارة عن كائنات حية (أحياء) دقيقة لعدم احتوائها على التركيب الخلوى .

ومن أول الفيروسات التى اكتشفت هو فيروس تبرقش الدخان Tobacco Mosaic Virus (TMV) • وقد اكتشفت بعد ذلك فيروسات كثيرة تصيب الانسان أو الحيوان أو النبات أو حتى البكتيريا •

وقد شهدت العشرون سنة الأخيرة اكتشاف كائنات حتى أصغر من الفيروسات ، ألا وهى الفيرويدات Viroids وهى لا تزيد عن كونها سلسلة منفردة من الحمض النووى رن أ Single stranded RNA تحتوى فى بعض أجزاء منها على سلسلة مزدوجة Double stranded وليس له غطاء بروتينى كما فى الفيروسات ، وهى تسبب بعض أمراض النبات والحيوان •

والكائنات المختلفة التى يعنى بدراستها علم الأحياء الدقيقة (الميكروبيولوجيا) Microbiology هى البروتوزوا والطحالب والفطريات والبكتيريا والفيروسات والفيرويدات يمكن تدريس كلا منها فى علم منفصل .

فالعلم الذى يدرس البروتوزوا Protozoa يسمى Protozology
والعلم الذى يدرس الطحالب Algae يسمى Algology أو Phycology
والعلم الذى يدرس الفطريات Fungi يسمى Mycology
والعلم الذى يدرس البكتيريا Bacteria يسمى Bacteriology
والعلم الذى يدرس الفيروسات Viruses يسمى Virology

كما يمكن تقسيم علم الأحياء الدقيقة (الميكروبيولوجيا) بطريقة أخرى وفقا لاماكن وجود الأحياء الدقيقة ونشاطها وليس وفقا لنوع الكائن الدقيق ، فعلم ميكروبيولوجيا الأغذية Food microbiology يهتم بدراسة ميكروبات الأغذية ونشاطها •

وعلم ميكروبيولوجيا الألبان Dairy Microbiology يهتم بدراسة ميكروبات الألبان ومنتجاتها •

وعلم ميكروبيولوجيا التربة Soil Microbiology يهتم بدراسة ميكروبات التربة ونشاطها ٠

وعلم الميكروبيولوجيا الطبية Medical Microbiology يهتم بدراسة ميكروبات الأمراض ونشاطها ٠

وعلم ميكروبيولوجيا التخمرات Microbial fermentation يهتم بدراسة ميكروبات التخمرات ونشاطها ٠

وعلم أمراض النبات Phytopathology يدخل فى اهتماماته الميكروبات المسببة للأمراض النباتيه ٠

كما يقسم علم الأحياء الدقيقة (الميكروبيولوجيا) تبعا لطبيعة الدراسة ، فمثلا علم بيئة الأحياء الدقيقة Microbial Ecology يهتم بدراسة بيئة الأحياء الدقيقة ٠

وعلم فسيولوجيا الأحياء الدقيقة Microbial Physiology يهتم بدراسة وظائف الأعضاء الى غير ذلك من فروع العلوم المتصلة بالأحياء الدقيقة ٠

أقسام الأحيـــــاء الدقيقـــة

ان تقسيم الأحياء الدقيقة ـ مثل تقسيم باقي الأحياء ـ هــــام جدا لسبب واضح ، هو أن الانسان لا يستطيع دراسة الأحيـــــاء المختلفة دون تمييز لما يتناوله بالدراسة .

والاصطلاح المتعارف عليه " كائنات حية دقيقة أو أحياء دقيقة " هو اصطلاح عام ولا يحدد مجموعة تقسيمية Taxanomic group ذات صفات محددة ، وذلك بخلاف اصطلاحات تقسيمية أخرى مثل " الفقاريات أو " النباتات الزهرية " فمثل هذه الاصطلاحات ذات مدلول معيـــن لمجموعة من الكائنات ذات صفات تركيبية ووظيفية محددة . وبالمقارنه فان كلمة " كائن حي دقيق Microorganism " لا تعني أكثر من أن ذلك الكائن الحي على درجة من الصغر لا تمكن من رؤيته بالعيـــــن المجردة .. ومثل هذه الكائنات الحية الدقيقة تشمل مجموعات تقسيمية شديدة الاختلاف في صفاتها التركيبية ، بعضها (مثل الطحالب) يكون بعض أفراده على درجة من كبر الحجم بحيث لا يمكن اعتبارهـــا أحياء دقيقة .

الخواص العامة للأنظمة الحيوية (الحية)

The Common properties of Biological Systems

قبل اكتشاف المجهر ، ميزت الكائنات الحية Biota عـــن غيرها من المخلوقات (الأشياء) بصفات أربع اساسية وهي :

١ـ النمو Growth
٢ـ التكاثر Reproduction
٣ـ التنفس Respiration
٤ـ التغذية Assimilation of food

ثم أضيف الى ذلك صفة هامة بعد اكتشاف المجهر ، وهـــي أن تكون وحدة تكوينها الخلية . بمعنى أن تكون " الخلية هي الوحـــدة الأساسية لأى مادة حية (نظام حي) .

والخلية عبارة عن كائن معزول عن الخلايا الأخرى بجدار خلوى أو غشاء خلوى (يحتوى بداخله على مجموعة المكونات تحت الخلوية Sub-Cellular components بعضها فقط موجود فى جميع الخلايا بصفة عامة الأحماض النووية Nucleic acids والبروتينات Proteins والدهون Lipids والكربوهيدرات Carbohydrates .

ونظرا لأن كل الخلايا تحتوى على هذه المكونات ، فهناك اعتقاد عام بأن كل الكائنات الخلوية نشأت من أصل واحد ، وخلال ملايين السنين حدثت الاختلافات المتعددة بين الكائنات. وتختلف هذه الخلايا فى الحجم كثيرا ، فمنها ما لا يرى بالمجهر مثل خلايا البكتيريا المعروفة باسم الركتسيا Rickettsia ومنها ما هو كبير الحجم مثل بيضة النعامة والتى تصل أبعادها الى ١٧٠ x ١٣٥ ملليمتر. أما خلايا الكائنات الدقيقة فقد اتفق على أنها خلايا الكائنات التى لا ترى بالعين المجردة.

وبالرغم من اختلاف الخلايا فهى جميعا عبارة عن نظام نشط أى ديناميكى Dynamic بمعنى أنها فى حالة تغير مستمر، نتيجة لتجديدها لمكوناتها ، فهى باستمرار تأخذ مواد من البيئة تستعملها فى بناء مكوناتها وتخرج النواتج الثانوية . ومع أن الخلية فى حالة تغير مستمر، فانها تظل دائما نفس الخلية . لذلك فهى نظام مفتوح Open system .

بعد اكتشاف المجهر الالكترونى Electrone microscope تم الكشف عن الفيروسات والفيرويدات ، وهى ليست خلايا وتفتقد حتى لصفات الخلايا ، فهى ليست نظاما ديناميكيا مفتوحا Open Dynamic System فالطور الخارجى للفيروس ويسمى فيريون Virion عبارة عن نظام ثابت أى استاتيكى Static system وليست لديه القدرة على تغيير أو استبدال أجزائه الا عندما يغزو خلايا حية (ذات النظام الديناميكى المفتوح) وعندئذ فقط يكتسب الفيروس بعض صفات الخلايا الحية (الكائنات الحية) . وهذا ما جعل كثير من علماء البيولوجيا

يترددون كثيرا فى الافصاح صراحة على أن الفيروسات عبارة عن كائنات حية رغم أنهم يتعاملون معها فى كثير من الأحيان ككائن حى ، ورغم احتوائها على الأحماض النووية وهى أهم مكونات الكائن الحى . فقد خصص للفيروسات فى المملكة النباتية (منذ زمن طويل) قسم خاص سمى باسمها Order Viralis كما أن الفيروسات تدرس ضمن علوم الأحياء الدقيقة منذ وقت ليس بالقصير .

فى العصر الحديث طورت الصفات التى تتميز بها الكائنات الحية Biota عن غيرها من المخلوقات (الأشياء غير الحية) Abiota لتصبح كالآتى :

١- جميع الكائنات الحية تحتوى على أحماض نووية وبروتينات .
٢- جميع الكائنات الحية تقوم بنشاطات معينة تعرف باسم الايض أو النشاطات الحيوية Metabolism or metabolic activities .
٣- جميع الكائنات الحية لها تركيب طبيعى متميز فى وحدات مجهرية تسمى الخلايا Cells أو الفيريونات Virions .

وكما هو ملاحظ أن الصفات الثلاث العامة السابقة تنطبق على جميع الكائنات التى تكون وحدة تركيبها الخلية أو الفيريون ، أما الفيرويدات Viroids فلا تنطبق عليها بعض الصفات المذكورة .

التقسيم المبدئى للكائنات الحية Primary Divisions of Cellular Organism

لقد مر تقسيم الكائنات الحية وانتسابها للكائنات المختلفة بمراحل عديدة ... فقد توصل الانسان بمنطقه - من قديم الزمان - الى أن كوكب الأرض يعيش عليه نوعين من الكائنات هما النباتات والحيوانات . وقد وجد هذا التقسيم فيما قبل بداية علوم الأحياء Biology وقد

انطلق البيولوجيون (المتخصصون فى علوم الحياة) من هذه النقطة فقسموا جميع الكائنات المعروفة ـ منذ زمن بعيد ـ فى مملكتين أساسيتين هما : المملكة النباتية Kingdom Plantae والمملكة الحيوانية Kingdom Animalia ـ وأمكن التمييز بين أفراد المجموعتين بعدد من الصفات والخواص التركيبية والوظيفية التى يمكن تلخيصها فى جدول ١ ـ ١ .

جدول ١ ـ ١ : الاختلافات الجوهرية بين الحيوانات الراقية والنباتات الراقية

الصفات		النباتات	الحيوانات
صفات وظيفية	مصدر الطاقة .	الضوء .	طاقة كيماوية
	مصدر الكربون	ثانى اكسيد الكربون .	مركبات عضوية .
	الاحتياج لعوامل نمو خاصة .	لا يوجد	احتياجات معقدة
	الحركة .	غير واضحه	نشطة وواضحة
صفات تركيبية	الجدار الخلوى	يوجد	لا يوجد
	البلاستيدات الخضراء .	يوجد	لا يوجد
	نظام النمو	مفتوح	مغلق (محدد)

وقد كان هذا التقسيم مرضيا وكافيا للبيولوجيون طالما كان التمييز المطلوب هو بين النباتات والحيوانات الراقية . عندما اكتشفت الكائنات الدقيقة فى القرن الثامن عشر والتاسع عشر لم يدر بخلد المتخصصون فى علوم الحياة (البيولوجيون) أى شك فى أنه من الممكن توزيع هذه

الكائنات الدقيقة بين المملكتين النباتية والحيوانية ٠ ومن الوجهـــة العملية كان يجرى توزيع الكائن الحى على احدى المملكتين اعتمادا على الاختلافات التى يمكن مشاهدتها بوضوح كالقدرة على الحركة النشطة Active movement أو القدرة على التمثيل الضوئى Photosynthesis لذلك وضعت الطحالب (وهى كائنات لا تتميز فيها سيقان أو جذور أو أوراق مثل سائر النباتات الراقية ، ولكنها غير متحركة وتقوم بتمثيـــل الضوء) بسهولة فى المملكة النباتية ٠ كما وضعت الفطريات أيضا فـــى المملكة النباتية لمشابهتها للطحالب فى عدم الحركة ووجود الجـــدار الخلوى ـ رغم عدم قدرتها على التمثيل الضوئى ٠ أما الـ Infusaria وهى كائنات متحركة وليس لها القدرة على التمثيل الضوئى ، فقد وضعت ضمن المملكة الحيوانية (جدول ١ ـ ٢) ٠

جدول ١ ـ ٢ : المحاولات الأولية (حوالى عام ١٨٠٠م)
لتقسيم الكائنات الدقيقة بين المملكتين النباتيةوالحيوانية

الكائنات الدقيقة التى وضعت فى المملكة النباتية وسبب ذلك ٠	الكائنات الدقيقة التى وضعت فى المملكة الحيوانية وسبب ذلك ٠
* الطحالب (غير متحركة ـ لها جدار خلوى ـ يقوم بالتمثيل الضوئى) ٠ * الفطريات (غير متحركة ـ لها جدار خلوى) ٠	الانفيوزاريا Infusaria (متحركة)

وبعد أن تطورت نظرية الخلية وأصبحت مقبولة (فى حوالى ١٨٤٠م) ومضمونها أن جميع الكائنات الحية وحدتها الخلية كما سبق الاشارة اليه ٠ وجد البيولوجيون أن مجموعة الانفيوزاريا Infusaria عبارة عن عـــدد كبير من الكائنات تختلف عن بعضها كثيرا ٠٠ فمنها ما هو عديد الخلايـا multicellular ومنها ما هو وحيد الخليـــة Unicellular

وحتى أولئك الوحيدى الخلية فمنهم ما له جدار خلوى Cell wall ومنهم ما ليس له جدار خلوى . لذلك فقد ضمت الكائنات المتعـــددة الخلايا (المجهرية) الى المملكة الحيوانية Metazoa وكذلــــك الكائنات الوحيدة الخلية Unicellular والتى لا تحتوى على جدار خلوى ، وهى البروتوزوا Protozoa فقد ضمت الى المملكة الحيوانيــة أيضا . أما البكتيريا Bacteria وهى كائنات وحيدة الخلية ولهـــا جدار خلوى ، فقد وضعت فى المملكة النباتية رغم عدم قدرتها علـــى التمثيل الضوئى وذلك للشبه الكبير بين البكتيريا وما كان يعرف فى ذلك الوقت باسم الطحالب الخضراء المزرقة Blue green algae وهـى كائنات وحيدة الخلية لديها القدرة على التمثيل الضوئى .

ولكن الخبرات التى اكتسبت بعد ذلك أوضحت بعض الصعوبـات فى تقسيم هذه الكائنات على هذه الصورة .. فالبروتوزوا (الكائنـــات الحيوانية وحيدة الخلية) عبارة عن مجموعة كبيرة غير متجانسة من الكائنات ، فمثلا الأميبا Amoebas والهدبيات Ciliates ليس لها جدار خلوى ويمكن وضعها بارتياح فى المملكة الحيوانية ، أما السوطيـــات Flagellates فقد اتضح أنها مجموعة متنوعة من الكائنات الدقيقــة لا يحتوى بعضها على أى صفة تشبه صفات الحيوانات أكثر من وجـــود الأسواط كوسيلة للحركة ، بينما وجد أن بعض السوطيات لها جـــدار خلوى وبعضها ليس لها جدار خلوى . بعضها له القدرة على التمثيـل الضوئى Phototrophic وبعضها ليس له القدرة على ذلك بـــل يعتمد على الطاقة الكيميائية Chemotrophic كما أن بعضها كان له القدرة على امتصاص الغذاء من البيئة Osmotrophic بينما بعضهـا الآخر يستطيع التهام الطعام Phagotrophic مثلها فى ذلك مثل الأميبا وعلى ذلك كانت هذه المجموعة من الكائنات تحتوى جميع الصور التى تشبه النباتات ، وجميع الصور التى تشبه الحيوانات . كما أن مجموعة أخـــرى من البروتوزوا Protozoa تسمى باسم الفطريات اللزجه Slime mold شكلت صعوبات واضحة فى التقسيم ، فهى فى المرحلة الخضرية تشبـــه البروتوزوا Protozoa من حيث عدم وجود جدار خلوى وقدرتهـــا على التهام الغذاء . ولكن هذه الكائنات لها القدرة على تكوين أجسـام

ثمرية Fruiting Structure تشبه فى شكلها وحجمها الفطريات الحقيقية (المنتسبة للملكة النباتية) •

وكلما تقدمت الدراسات والاكتشافات للمجموعات المختلفة من الكائنات أصبح من الواضح أن تقسيم جميع الكائنات فى مملكتين فقط (النباتية والحيوانية) غير كاف وغير مقنع للكثير من البيولوجيين Biologists فقد كانت بعض المجموعات من الكائنات الحية تقسم ضمن المملكة الحيوانية وضمن المملكة النباتية فى نفس الوقت مثل السوطيات Flagellates والفطريات اللزجة Slime mold .

ويمكن تفسير هذه الاختلافات بسهولة على أساس التطور الذى حدث عبر الدهور •• فالواضح أن كل مجموعات الكائنات الحية الدقيقة نشأت من أصل واحد وخلال تطورها ظهرت كائنات المملكة النباتية وكائنات المملكة الحيوانية •

اقتراح مملكة البروتستا :

ان عدم اقتناع عدد كبير من البيولوجيين Biologists وعدم رضاهم عن انتماء بعض الكائنات الدقيقة لكلا المملكتين حدا بأحد تلاميذ داروين Darwin وهو هيكل E.Haeckel الى اقتراح مملكة ثالثة Third Kingdom سماها مملكة البروتستا Protistae لتشمل كل الكائنات الدقيقة وهى البروتوزوا Protozoa والطحالب Algae والفطريات Fungi والبكتيريا Bacteria • ومن الواضح أن هذه المملكة احتوت على كائنات تشبه النباتات وكائنات تشبه الحيوانات وكائنات تشبه الاثنين معا •

والشىء الذى تتميز به أفراد الكائنات التابعة لهذه المملكة Protists وهو البساطة النسبية فى تركيبها ، وأن كانت بعض كائنات البروتستا وحيدة الخلية Unicellular وبعضها متعدد الخلايا Multicellular وبعضها متعدد الأنوية Coenocytic وبعضها وحيد النواه Uninucleates .

وبناء على ذلك قسمت الكائنات كلها تبعا لدرجة التعقيد في التركيب الى كائنات أولية وكائنات متطورة Highly organized الكائنات الأولية تشمل (البروتوزوا ، الطحالب ، الفطريات ، البكتيريا) ثم فصلت البكتيريا فيما بعد من هذه المملكة في مملكة منفصلة وهى مملكة بدائية النواه Kingdom Procaryotae ، وأما الكائنات المتطورة فتنقسم الى المملكتين النباتية والحيوانية وفقا للصفات التي تميز بين النباتات الراقية والحيوانات الراقية التى سبق الاشاره اليها ٠

الأحياء حقيقية النــواة Eucaryotes والأحياء بدائية النــواة Procaryotes

فى منتصف القرن العشرين أدى ظهور المجهر الالكترونى والذى يستطيع تكبير الأشياء آلاف المرات الى اكتشافات هامة فى مجال التركيب الداخلى للخلايا ٠ فقد أوضحت الدراسات أن الكائنات الحية كلها يمكن تقسيمها الى مجموعتين بناء على تركيبها الخلوى ٠ فالخلية الأكثر تعقيدا هى الخلية ذات النواة الحقيقية Eucaryotes وهى وحدة جميع الكائنات ذات التركيب الخلوى (النباتات الراقية والطحالب والفطريات والحيوانات الراقية والبروتوزوا) فيما عدا البكتيريا ، أما الخلية الأقل تعقيدا فهى الخلية ذات النواه البدائية Procaryotes والكائنات الحية ذات النواة البدائية تشمل البكتيريا ، وما كان يعرف فى الماضى باسم الطحالب الخضراء المزرقة Blue green Algae وقد سميت هذه الأخيرة الآن باسم البكتيريا الخضراء المزرقة Blue green bacteria نظرا للشبه الشديد بينها وبين البكتيريا الحقيقية ، كما أن هذه الأحياء تختلف اختلافا جوهريا عن الطحالب الحقيقية والتى تحتوى على نواة حقيقية

ومع النمو السريع فى المعلومات المتحصل عليها - فى مجال التركيب الدقيق لخلايا الأحياء الدقيقة - بواسطة المجهر الالكترونى حدث نمو

آخر سريع أيضا في مجال وظائف الأعضاء الدقيقة للخلايا مثل نقـــل المعلومات الوراثية وترجمتها Transmission and experession of genetic information ونظم تمثيل الطاقة ونظم دخـــول وخروج المواد من والى الخلية وغيرها من الاكتشافات. وأدت هـــذه الاكتشافات المتلاحقة الى ترسيخ الفصل بين الأحياء ذات النـــواة الحقيقية Eucaryotes والأحياء ذات النواة البدائية Procaryotes وأصبحت هذه الصفة (وجود نواة حقيقية أو غيابها) هي أكثر الصفـات منطقا وأهمية في فصل الكائنات الحية من وجهة التطور وليس هذا فقط بل أن هذه الصفة تفصل مجموعتين مختلفتين تماما من الكائنات الحية .

وبذلك فانه اذا كان التركيب الخلوى أو الفير يونى (فى المستوى الأول من التمييز) هو الصفة التى تميز بين الكائنات الحية Biota والأشياء غير الحية Abiota فان وجود النواة الحقيقة (فى المستوى الثانى من التمييز) ينبغى أن يكون الصفة التى تقسم الكائنات الحيـة الى قسميها المختلفين (ذوى النواة البدائية وذوى النواة الحقيقيـــة) على أن يكون مدى بدائية أو تطور الكائن الحى هو المستوى الثالــث للتمييز (شكل ١-٤) بينما تؤخذ الصفات التى تميز بين النبـــات والحيوان من قديم الزمن على المستوى الرابع من التمييز لفصل الكائنات النباتية عن الحيوانية . ويمكن تلخيص ذلك فى الشكل (١-٤) حيـث يمكن تقسيم كافة الأحياء ذات التركيب الخلوى (كما تعرفها اليـــوم) فى أربع ممالك :-

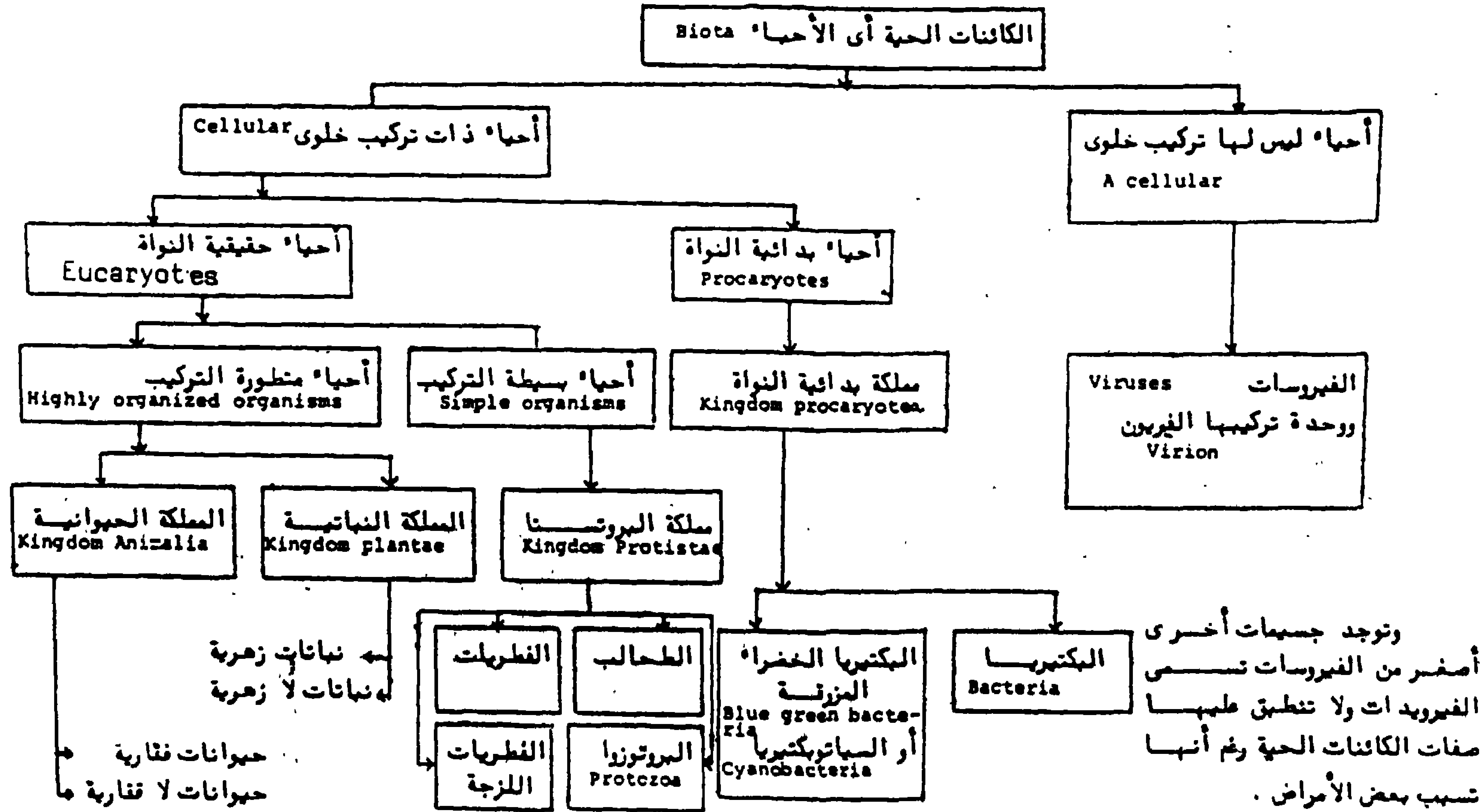
أولا : المملكة الحيوانية : Kingdom Animalia

وتشمل الحيوانات الفقارية Vertebrates واللافقارية Invertebrates

ثانيا : المملكة النباتية : Kingdom Plantae

وتشمل النباتات الزهرية واللازهرية .

شكل ١-٤ : كيفية تقسيم الكائنات الحية الى فروعها الأساسية :



وتوجد جسيمات أخرى أصغر من الفيروسات تسمى الفيرويدات ولا تنطبق عليها صفات الكائنات الحية رغم أنها تسبب بعض الأمراض .

ثالثا : مملكة البروتستا : Kingdom Protistae

وتشمل الطحالب Algae والفطريات Fungi والفطريات اللزجة Slime mold والبروتوزوا Protozoa .

رابعا : مملكة ذات النواة البدائية : Kingdom procaryotae

وتشمل البكتيريا Bacteria والسيانوبكتيريا Cyanobacteria (البكتيريا الخضراء المزرقة Blue green bacteria) ·

أما المملكتين النباتية والحيوانية فهما موجودتان من قديم الزمن ولا اختلاف على وجودهما · كما أن مملكة ذوات النواة البدائية قد أصبحت مقبولة من جميع البيولوجيين للاختلافات الجوهرية بين ذوات النواة البدائية وبين جميع الكائنات الحية الخلوية الأخرى ·

أما مملكة البروتستا فمازالت موضع نقاش كبير ، ومازال كثير من علماء النبات Botanists يعتبرون الفطريات والفطريات اللزجة والطحالب ضمن المملكة النباتية (النباتات الثالوسية Thalophyta) بينما يعتبر الكثير من علماء الحيوان أن المكان الطبيعي للبروتوزوا والفطريات اللزجة هو المملكة الحيوانية رغم المشاكل التي سبق شرحها من حيث وجود الفطريات اللزجة وبعض أفراد البروتوزوا مثل السوطيات في كلا المملكتين ·

وأيا كان موضع هذه الأحياء الدقيقة ، فقد تم التعارف على أن علم الأحياء الدقيقة يهتم بدراسة الأحياء المجهرية التي لا تميز بالعين المجردة وهي البكتيريا والطحالب والفطريات والفطريات اللزجة والبروتوزوا · وهذا غير دراسة الفيروسات والفيرويدات ، ولذلك فان هذا الكتاب سيتعرض لدراسة هذه المجموعات ·

الفصل الثانى
أهمية دراسة الأحياء الدقيقة

يتميز كوكب الأرض بوجود صور مختلفة من الحياه٠ ومن غير المعروف الآن ما اذا كانت الحياه ـ كما نعرفها الآن ـ توجد فى كواكب أخرى فى هذا الكون الواسع ٠ ولكن البيئة الممتازة لكوكب الأرض تبدو واضحة جلية بمعرفة الصور المتعددة والمختلفة للحياة ، والاختلافات بين الكائنات الحية الراقية أقل كثيرا من تلك التى توجد بين الأحياء الدقيقة ، وعلى أى حال لا توجد بيئة من البيئات على الأرض تنمو فيها الأحياء الراقية دون نمو الأحياء الدقيقة ، ولكن العديد من البيئات التى لا تصلح أو لا تناسب نمو الأحياء الراقية يوجد بها أحياء دقيقة نامية أو حتى مزدهرة النمو ، ولكن نظرا لأن حجم الأحياء الدقيقة يكون دون قدرة ابصار العين البشرية فغالبا ما لا يدرك الانسان نمو الأحياء الدقيقة للوهلة الأولى ، ولكن الأحياء الدقيقة تؤدى عددا من الوظائف التى لا غنى عنها للأحياء الراقية بما فى ذلك الانسان ٠ لذلك فانه يمكن القول أن الحياه لجميع الكائنات الراقية تنتهى بسرعة من على كوكب الأرض فى غياب الأحياء الدقيقة ، وذلك على الرغم من الانزعاج الذى يصيب كثيرا من الناس عندما يسمعون كلمة أحياء دقيقة أو ميكروبات أو جراثيم أو غيرها من الاصطلاحات ٠ ولا تنحصر أهمية الأحياء الدقيقة فى قدرتها على احداث الأمراض فى الانسان والحيوان والنبات ـ ولو أن ذلك فى حد ذاته كافيا لجذب اهتمام جميع البشر ـ ولكن الأهم من ذلك هو دور الأحياء الدقيقة فى اكمال دورات العناصر المختلفة فى الطبيعة تيسيرا لاعادة استعمالها بواسطة الأحياء المختلفة ، وقد لجأ الانسان لاستعمال الأحياء الدقيقة فى كثير من أموره مثل انتاج المضادات الحيوية لعلاج الأمراض ، وكذلك انتاج كثير من المواد الغذائية أو الصناعية الهامة مثل الخبز ومنتجات الألبان والمخللات والفيتامينات والانزيمات والبروتينات والدهون والاستيرويدات والأحماض العضوية والكحولات وحتى انتاج المتفجرات وغيرها من المركبات ٠ كما لجأ الانسان الى الأحياء الدقيقة فى مكافحة الحشرات وزيادة خصوبة التربة والتخلص من الفضلات الزراعية والآدمية والكشف عن أماكن وجود

البتـرول ·

ويعزى للأحياء الدقيقة الفضل فى تطوير معلومات الانسان فـى مجالات علوم المناعة والوراثة والكيمياء الحيوية والهندسة الوراثية والطب وحفظ الأغذية والدراسات البيئية والعديد من المجالات الأخرى مثـل مجال الحرب الحيوية (البيولوجية) أو حرب الجراثيم ·

ولا يمكن لكتاب بمثل هذا الحجم أن يتناول بالحصر كل تلـك المجالات بالتفصيل ، ولكننا سنتناول هذا الموضوع بقدر من الايجاز ·

أولا : دور الأحياء الدقيقة فى

اكمال دورات العناصر المختلفة فى الطبيعة

يبدو أن الحالة الكيميائية الراهنة للعناصر المختلفة على سطـح الأرض قد جاءت كنتيجة مباشرة لنشاط الأحياء المختلفة · فقبل بـدء الحياة كانت الغازات فى الغلاف الجوى المحيط بالأرض مختزلة الـى درجة كبيرة ، فالنيتروجيـن (N_2) كان موجودا فى صورة أمونيـا (NH_3) والاكسجين O_2 كان موجودا فى صورة ماء (H_2O) والكربون (C) فى صورة ميثان (CH_4) ثم تأكسدت كميات كبيـرة من هذه العناصر بمرور الوقت ، ولذلك فهى توجد الآن فى صـورة غازات نيتروجين (N_2) وأوكسجين (O_2) وثانى اكسيد الكربـون (CO_2) والكمية الموجودة من هذه المركبات الآن تمثل فى الحقيقـة محصلة الاتزان بين الناتج من هذه المواد والمستهلك منها بواسطـة الأنظمة الطبيعية والحيوية المختلفة ··· وهذا التغيير بين الحالـة المؤكسدة والمختزلة للمواد يحدث فى جميع ارجاء الأرض حيثما وجـدت كائنات حية ، وتسمى جميع الأماكن المحتوية على أحياء مجتمعة بالمنطقة الحياتيه Biosphere من الأرض ، وذلك تمييزا لها عن المناطـق الثلاث (الغلاف المائى Hydrosphere واليابسة Lithosphere والغلاف الجوى Atmosphere) والتى تقسم اليها الأرض مـن الناحية الجيولوجية ·

والغلاف الحيوى أو الحياتى Biosphere تمثله كتلة الأحياء الموجودة فى الغلاف الرقيق من القشرة الأرضية متضمنا اليابس والماء والهواء .

ويوجد هذا الغلاف الحياتى الرقيق على سطح الأرض بصفة عامة فى صورة مستمرة ومتزنة الى حد ما Steady state . ويرجع الاتزان المستمر لهذا الغلاف الى اعادة الاستخدام بصورة دورية مستمرة للعناصر المختلفة الضرورية للحياة Cyclic turnover والذى يتم التحكم فيه بواسطة الطاقة المنبعثة من الشمس.

وتأتى الخطوات المختلفة لاعادة استخدام العناصر بصفة دورية كنتيجة لنشاط الأحياء المختلفة . ولذلك فان التواجد المستمر لأى مجموعة من مجموعات الأحياء التى تساهم فى اكمال دورات العناصر يعتمد على تواجد كل المجموعات الأخرى من الأحياء التى تساهم فى اكمال دورات العناصر المختلفة ، وأى كسر فى الدورة عند أى نقطة يؤدى الى القضاء على جميع صور الحياه الأخرى . وتحدث التغيرات الدورية لكل العناصر الرئيسية الضرورية للحياة (الكربون والأكسجين والنيتروجين والكبريت والفوسفور) .

ويمكن تلخيص طبيعة التغيرات الدورية فى الغلاف الحياتى كما يلى :

يتحول ثانى أكسيد الكربون (CO_2) ومركبات معدنية أخرى تسحب من البيئة الى مركبات عضوية بواسطة عملية التمثيل الضوئى للأحياء المحتوية على كلوروفيل وخاصة لمجموعتين من الأحياء أولهما هى النباتات الزهرية على اليابسة والثانية هى الأحياء المائية التى تحتوى على الكلوروفيل كالطحالب وحيدة الخلية مثل الدياتومات Diatoms والسوطيات Dinoflagellates .

وتعتبر هذه المركبات العضوية هى مصدر الطاقة بطريقة مباشرة أو غير مباشرة لجميع صور الحياة الأخرى ، حيث تستهلك الأحياء

الممثلة للضوء بواسطة الحيوانات المائية والبرية أو بواسطة الأحيـــــاء الدقيقة . لذلك يطلق على الأحياء الممثلة للضوء اسم المنتج الأساسي Primary producers نظرا لأنها تقوم بتثبيت الطاقة الضوئيـــــة وانتاج الغذاء لسائر الأحياء الأخرى مباشرة أو غير مباشرة ، ويطلـــق على الحيوانات آكلة العشب والطحالب اسم المستهلك الأولى Primary consumer (Herbivorous) وقد تصبح كائنات مجموعة المستهلك الأولى نفسها طعاما لأحياء أخرى مثل آكلات اللحوم Carnivorous ولذلـــك تسمى آكلات اللحوم باسم المستهلك الثانى Secondary consumer ، وتمثل كائنات مجموعة المستهلك الثانى طعام لأحياء أخرى مكونة بذلـــك سلسلة من المستهلكين تعرف باسم سلسلة الغذاء Food Chain .

والعناصر المعدنية التى تم تثبيتها مع ثانى اكسيد الكربون الـــى مواد عضوية لا يمكن اعادة استخدامها ثانية الا بعد اعادة تحويلهـــا ثانية للصورة غير العضوية ، وتسمى هذه العملية باسم المعدنـــــة Mineralization وفى هذه الخطوة يتم تحليل أجسام النباتـــــات والحيوانات وفضلاتها الى مكوناتها الأساسية بواسطة الأحياء الدقيقـة وبصفة خاصة الفطريات والبكتيريا . وقد قدر أن ٩٠٪ من عملية المعدنـــة (تحويل المواد العضوية الى ثانى اكسيد الكربون + أملاح معدنية) على سطح الأرض يتم بواسطة هاتين المجموعتين من الأحياء الدقيقـــة (البكتيريا والفطريات) أما ١٠٪ الباقية فانها تتم بواسطة النشاطات الحيوية لسائر الأحياء الأخرى مضافا اليها احتراق الزيوت والوقـــود والمواد المختلفة . ومن ذلك نرى المساهمة العظيمة للأحياء الدقيقـــة فى هذه الخطوة (المعدنة) الهامة لاستمرارية الحياة لسائر الأحيـاء الأخرى . وترجع مشاركة الأحياء الدقيقة فى معدنة هذه النسبة العالية من المواد العضوية الـــى :

(١) قدرتها العالية للتمثيل الغذائى (نسبة لارتفاع نسبـــــة سطحها الى حجمها) كما سيلى شرح ذلك بالتفصيل فيما بعد .

(٢) كتلتها الحيوية ، اذ يحتوى كل جرام من التربة الخصبة على نحو ١٠٠ مليون من الخلايا البكتيرية الحية يتراوح حجم الواحدة منها بين ١-٣ ميكروميتر مكعب (الميكروميتر يساوى جزء من ألف جزء من المليمتر) وقد قدرت كتلة الفطريات والبكتيريا فى البوصات الست السطحية لمساحة هكتار واحد من تربة زراعية جيدة بحوالى طنان . وهذا يعنى من الناحية العلمية أن الكتلة الكلية للميكروبات على هذا الكوكب توشك أن تستعصى على الاحصاء لفرط ضخامتها . وقد تبلغ - طبقا لبعض التقديرات - بالقياس لكتلة الحيوانات فى البر والبحر معا خمسة وعشرون ضعفا .

(٣) تتكاثر بعض الأحياء الدقيقة بسرعات كبيرة جدا عندما تتاح لها الظروف المناسبة للنمو ، فبعض أنواع البكتيريا قد تنقسم خلاياها فى ظروف مناسبة مرة كل خمس عشرة دقيقة ، والكثير من البكتيريا يتضاعف مرة كل ٢٠ دقيقة ، وهذا بالطبع معدل مذهل للتكاثر اذا قيس بأغلب الأحياء الأخرى . فالخلية الواحدة من بكتيريا القولون E. coli - اذا توفرت لها الظروف المناسبة باستمرار فرضا - تستطيع انتاج كتلة من البكتيريا تزيد عن وزن الأرض فى يومين .

(٤) تؤدى النشاطات المختلفة للأحياء الدقيقة مجتمعة الى تحليل أى مادة عضوية فى الطبيعة (باستثناء عدد قليل جدا من المواد كالبلاستيك) .

وفيما يلى نستعرض دورات العناصر المختلفة لايضاح دور الأحياء الدقيقة فيها .

١- دورة الفوسفور :

دورة الفوسفور هى أبسط دورات العناصر فى الطبيعة من الوجهة الكيميائية .. فالفوسفور يوجد فى الأحياء برقم تأكسد واحد هو (+٥) سواء أكان ذلك فى صورة أيونات أملاح الفوسفات أو فى صورة فوسفات

عضوية فى مكونات الخلية . ومعظم الأحياء الدقيقة لا تستطيع الاستفادة من الفوسفات العضوية فى الوسط المحيط ، ولكن معظم احتياجات الفوسفور يتم تغطيتها بواسطة أملاح الفوسفات غير العضوية ، وهذه تتحول داخل الخلايا الى فوسفات عضوية فى المركبات الخلوية المختلفة وعند موت الخلايا فان أيونات الفوسفات تنطلق ثانية نتيجة لعمليات التحلل (المعدنة) للخلايا الميتة .

وتستخدم الفوسفات الناتجة فى بناء خلايا جديدة .. وبالرغم من توفر أملاح الفوسفات بكثرة فى الأراضى والصخور فان الفوسفات كثيرا ما تكون عاملا محددا للنمو لبعض الأحياء الدقيقة وذلك لأن كميات كبيرة من الفوسفات الموجودة تكون غير ذائبة مثل فوسفات الكالسيوم او فوسفات الحديد أو فوسفات الألومنيوم . كما أن المياة العذبة كثيرا ما تكون الفوسفات فيها بتركيزات منخفضة جدا ، ولذلك فكثير من الأحياء البحرية تستمد احتياجاتها من الفوسفور من التغذية على بعض الطحالب المائية والتى تقوم بتركيز الفوسفات من ماء البحر .

تنتقل أملاح الفوسفات القابلة للذوبان من اليابس الى مياه البحار والمحيطات بصفة مستمرة نتيجة الأمطار أو نتيجة صرف الأراضى الزراعية فى المصارف المختلفة .

وهذه الحركة المستمرة من اليابس الى البحر يقابلها تحول بعض أملاح الفوسفات غير القابلة للذوبان فى الصخور والأراضى الى فوسفات ذائبه وذلك لدعم استمرارية الحياة لسائر الأحياء .

وهذا التحول لأملاح الفوسفات غير القابلة للذوبان الى املاح قابلة للذوبان يتم اساسا بواسطة الأحياء الدقيقة التى تفرز مواد حمضية (أحماض الستريك — النيتريك والكبريتيك) وذلك كمخلفات ثانوية لها فتذيب أملاح فوسفات الكالسيوم . كما أن البكتيريا التى تنتج كبريتور الأيدروجين H_2S كمادة ثانوية تقوم باذابة فوسفات الحديديك ... وهكذا يحدث التوازن بين الفوسفات التى تفقد الى البحار والمحيطات والفوسفات التى تذوب باستمرار من الأراضى والصخور وكذلك الفوسفات

التى تستهلكها الأحياء والفوسفات التى تنتج أثناء عملية المعدنة .

٢ـ دورة الكربون والأكسجين :

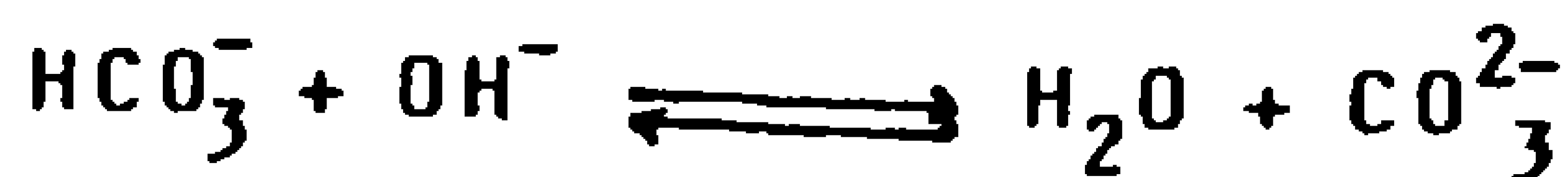
يتم التحول الدورى لكلا من الكربون والأوكسجين أساسا بواسطة عمليتين أساسيتين الأولى منهما هى التمثيل الضوئى والثانية هى التنفس والاحتراق ، فمن جهة يتم فى التمثيل الضوئى تحويل الصورة المؤكسدة للكربون (وهى ثانى اكسيد الكربون CO_2) الى صورة مختزلة وهى المركبات العضوية المختلفة $(CH_2O)_N$) كما تتحول الصورة المختزلة للأكسجين (وهى الماء H_2O) الى صورة مؤكسدة وهى الأكسجين الجزيئى O_2 ، ولا يغيب عن الذهن هنا أن بعض الأحياء الدقيقة ذاتية التغذية تستطيع اختزال ثانى اكسيد الكربون CO_2 الى مواد عضوية مع أكسدة مواد أخرى غير الأوكسجين المختزل (الماء) . ومن أمثلة ذلك تلك المواد المؤكسدة الأخرى كالأيدروجين H_2 وأملاح الحديدوز Fe^{+2} وأملاح النتريت NO_2^- وكبريتور الهيدروجين H_2S وغيرها . ومن جهة أخرى يؤدى التمثيل الغذائى (الأيض) Metabolism ـ والمرتبط مباشرة أو غير مباشرة باختزال الأوكسجين ـ للأحياء غير ذاتية التغذية الى اكمال دورة الكربون والاوكسجين مولدا الاحتياجات الأساسية للتمثيل الضوئى وهى ثانى أكسيد الكربون والماء .

ويتم التمثيل الضوئى من ناحية بواسطة الطحالب والنباتات الخضراء لانتاج المواد العضوية من ثانى أكسيد الكربون والماء ، أما عمليات التمثيل الغذائى والتنفس فتتم بواسطة النباتات والطحالب والحيوانات التى تتغذى على النباتات والطحالب مؤدية الى تحويل نسبة بسيطة من المواد العضوية الى ثانى أكسيد الكربون وماء كما أن نسبة بسيطة أخرى من المواد العضوية تحترق بوسائل مختلفة فى الطبيعة ، ولكن الجزء الأعظم من المواد العضوية يتحول الى ثانى أكسيد الكربون وماء بواسطة الأحياء الدقيقة وفق الشكل (٢ـ١) .

يحتوى الهواء بالحجم على حوالى ٠٣ر٪ ثانى أكسيد كربون وهذا التركيز ثابت نسبيا كنتيجة للاتزان بين عمليات التمثيل الضوئى والمعدنة أو التمثيل الغذائى (الأيض) وعند اذابة ثانى أكسيد الكربون فى ماء خفيف القلوية تتكون أملاح البيكربونات (HCO_3^-) وأملاح الكربونات CO_3^{2-} وفقا للمعادلات الآتية :

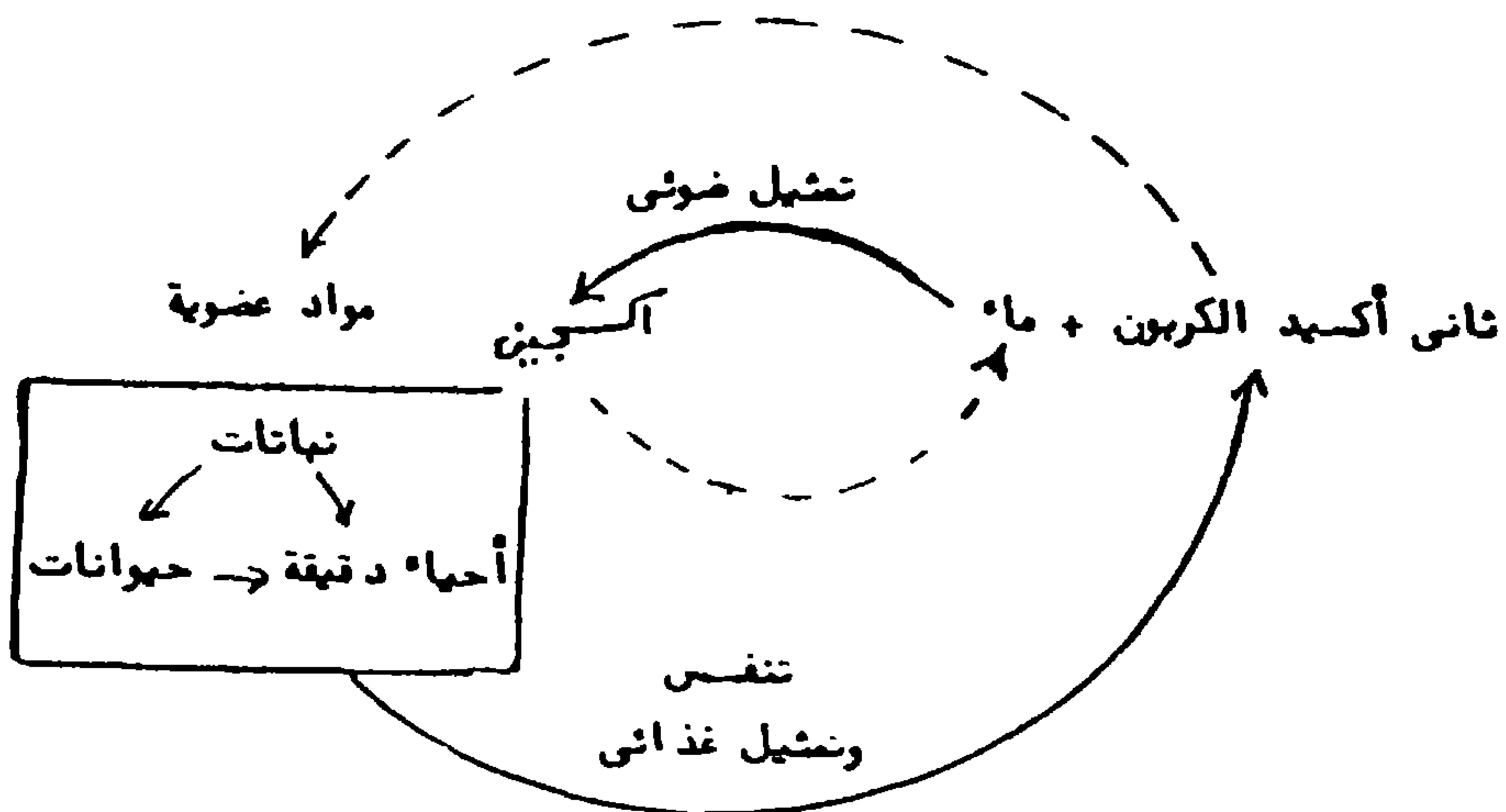


$$CO_2 + OH^- \rightleftharpoons HCO_3^-$$



$$HCO_3^- + OH^- \rightleftharpoons H_2O + CO_3^{2-}$$

شكل ٢ ـ ١ : دورة الكربون والأوكسجين وقد وضحت خطوات الأكسدة بخطوط متصلة ، أما خطوات الاختزال فقد وضحت بخطوط متقطعة .



وعلى ذلك فان أملاح البيكربونات تعمل كمصدر لثانى أكسيد الكربون للأحياء المائية الممثلة للضوء • وتحتوى مياه البحار على حوالى ٠٠٢ر مولر من أملاح البيكربونات ولذلك تعتبر المحيطات كمستودع احتياطى لغاز ثانى أكسيد الكربون فى الهواء الجوى محتفظة بتركيز منخفض وثابت نسبيا •

ويمكن ايضاح أهمية دورة الكربون بمعرفة نسبة ثانى أكسيد الكربون فى الهواء الجوى وهى نسبة بسيطة (٠٣ر٪) واذا لم تتجدد باستمرار فانها لا تكفى المستوى الحالى من التمثيل الضوئى الذى يحدث على الأرض مدة تزيد عن عشرون عاما •

المعدنة وانتاج ثانى اكسيد الكربون :

وقد يكون من المفيد توجيه عناية القارئ الى أن عمليات التنفس والتمثيل الغذائى للأحياء المختلفة تؤدى لتحويل المواد العضوية الى ثانى أكسيد كربون وماء بما فى ذلك نشاطات الأحياء الدقيقة التى تتغذى على الأجسام الميته للانسان والحيوان والنبات على أنه لا يجب أن يغيب عن الذهن أن الأحياء الدقيقة التى لا تنتج أكثر من ثانى أكسيد كربون وماء كنواتج للتنفس يتجه جزء من المادة العضوية المستعملة لبناء الخلايا النامية نفسها ، ولكن حتى تلك الخلايا فى النهاية تموت وتصبح هى نفسها غذاء لأحياء أخرى وهكذا •• أما فى التنفس اللاهوائى فانه كثيرا ما ينتج مركبات أخرى ثانوية غير ثانى أكسيد الكربون وهذه المركبات الأخرى تستخدم بواسطة أحياء أخرى حتى يتم التحول فى النهاية الى ثانى أكسيد كربون ويتوقف نوع الأحياء الدقيقة اللاهوائية التى تنمو على مدى توفر مادة بديلة مستقبلة لأزواج الالكترونات الناتجة أثناء التنفس. وقد تكون هذه المواد اما نترات أو كبريتات SO_4^- أو غيرها •••

دور الأحياء الدقيقة فى تخزين الكربون فى صورة غير عضوية :

تذوب نسبة من ثانى أكسيد الكربون من الهواء الجوى فى مياه البحار والمحيطات مكونا أيونات الكربونات كما سبق الاشارة اليه ، عندما تتفاعل أيونات الكربونات CO_3^{2-} مع أيونات الكالسيوم Ca^{2+} فى مياه المحيطات والبحار تتكون كربونات الكالسيوم الغير ذائبة والتى تترسب وبذلك فان نسبة من ثانى أكسيد الكربون تتحول الى صخور كلسية ، وهذه الصخور لا تمثل مصدرا مباشرا لثانى أكسيد الكربون للأحياء الممثلة للضوء . وبذلك تنقص كمية ثانى اكسيد الكربون المتاحة للتمثيل الضوئى . ولكن معظم هذا الكربون المترسب فى صورة صخور كلسية يدخل دورة الكربون ثانية خلال عمليات التحات أو التعرية الجوية . كما تذوب كربونات الكالسيوم بتغيير درجة تركيز أيون الأيدروجين pH وتحدث التغيرات فى رقم الـ pH بواسطة العديد من الأحياء الدقيقة ، فالأحياء الدقيقة التى تنتج الأحماض أثناء عملية التأزت (النترتة) Nitrification وأكسدة الكبريت Sulfur Oxidizing وكذلك بعض التخمرات الأخرى كلها تؤدى الى خفض رقم الـ pH مما يؤدى الى اذابة الصخور الكلسية وادخال ثانى أكسيد الكربون مرة ثانية فى دورة الكربون .

كما أن بعض الأحياء الدقيقة قد تقوم بدور معاكس عن طريق رفع رقم الـ pH مؤدية الى ترسيب كربونات الكالسيوم ، ومن أمثلة ذلك الأحياء الدقيقة التى ينتج عنها اختزال أملاح الكبريتات Sulfate reducing أو اختزال أملاح النترات Denitrification فينتج عن ذلك زيادة القلوية فى الوسط وترسب ملح كربونات الكالسيوم .

٣ ـ دورة النيتروجين :

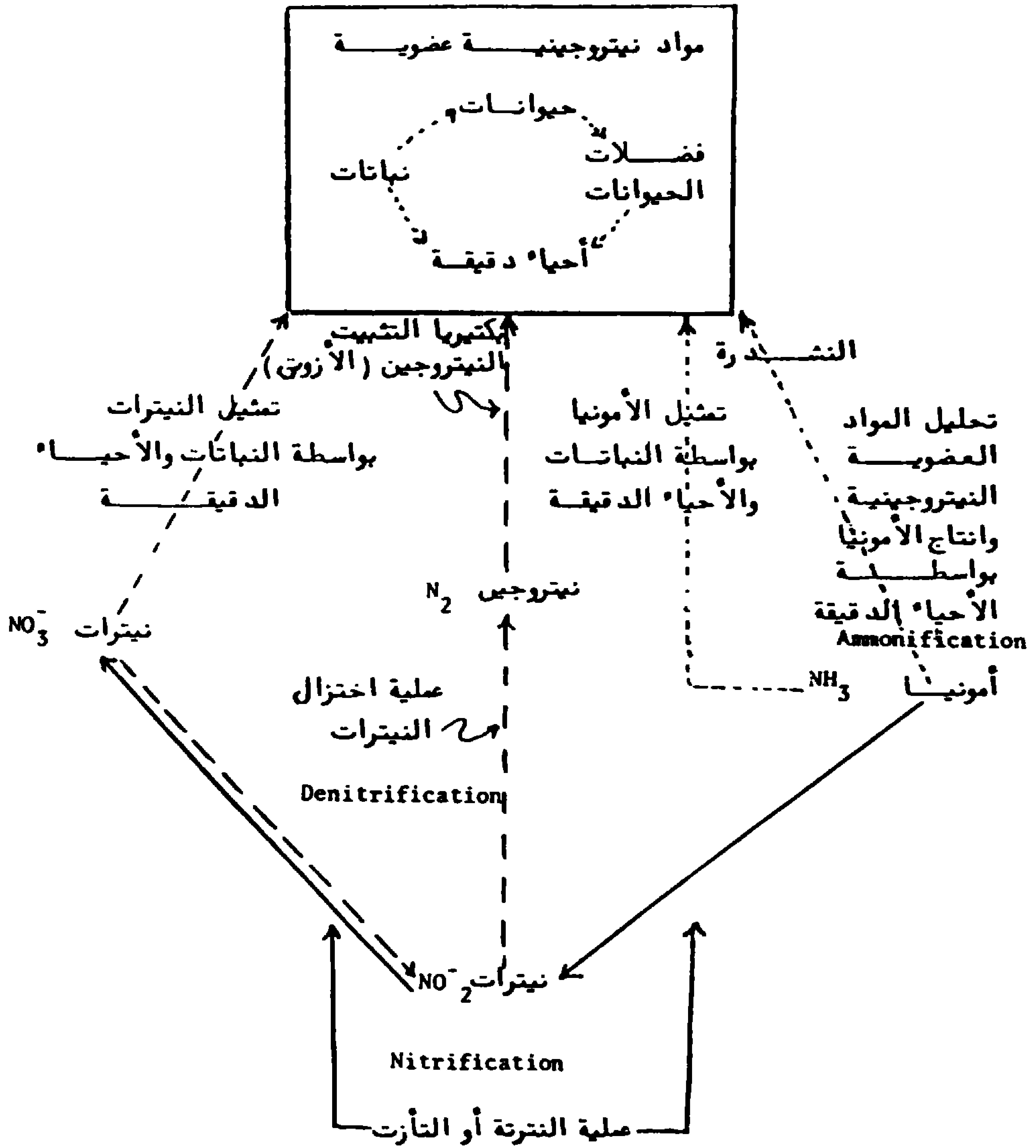
بالرغم من توفر النيتروجين الجزيئى N_2 فى الطبيعة مكونا حوالى ٨٠٪ بالحجم من هواء الغلاف الجوى للأرض . الا أنه غاز خامل كيميائيا

وغير مناسب كمصدر نيتروجيني لمعظم صور الحياة على الأرض . فكل الحيوانات والنباتات وعدد كبير جدا من الأحياء الدقيقة تعتمد في احتياجاتها من النيتروجين على نيتروجين مرتبط أو نيتروجين سبق تثبيته ، ولكن نظرا لندرة النيتروجين المرتبط في صورة أمونيا أو نيترات أو حتى في صورة عضوية ، فان المصدر النيتروجيني كثيرا ما يصبح عاملا محددا لنمو الأحياء وازدهارها ، ولذلك فان دورة النيتروجين تعتبر على درجة كبيرة جدا من الأهمية في تزويد سائر الأحياء بالمصادر المناسبة من النيتروجين . والشكل (٢ـ٢) يوضح دورة النيتروجين .. وفيما يلي نوضح أهم معالمها :

أ ـ تثبيت النيتروجين : Nitrogen Fixation

تقدر كمية النيتروجين التي تمر خلال دورة النيتروجين بحوالى $١٠^{٨}$ الى $١٠^{٩}$ طن سنويا . ونظرا لتوفر النيتروجين الغازى بكميات كبيرة فانه يبدو أن الخطوة المحددة في دورة النيتروجين هي خطوة تثبيت النيتروجين ، وعليها تعتمد باقي الدورة . وهذه الخطوة تتم في الطبيعة بواسطة بعض أنواع البكتيريا ولو أن نسبة بسيطة (٥ر٪ من مجموع النيتروجين المثبت) يتم تثبيته عن طريق البرق Lightening والأشعة فوق البنفسجية وبعض آلات الاحتراق الداخلي . كما تساهم صناعة الأسمدة في تثبيت ما لا يزيد عن ٥٪ من مجموع النيتروجين المثبت سنويا على سطح الكرة الأرضية . ومن ذلك يتضح أن أكثر من ٩٠٪ من النيتروجين المثبت يتم بواسطة مجموعتين من البكتيريا :-

(١) تقوم المجموعة الأولى من البكتيريا بتثبيت النيتروجيس وهي حرة المعيشة Free living ويسمى التثبيت النيتروجيني غير التعاوني Non symbiotic nitrogen fixation ومن أمثلة البكتيريا التي تقوم به البكتيريا الخضراء المزرقة أنابنا Anabaena ، ونوستوك Nostoc وعدد آخر من البكتيريا منها ما هو هوائي مثل الأزوتوباكتر Azotobacter وبييرينكيا Beijerinckia باسيلس



شكل ٢ــ٢ : دورة النيتروجين مثلت خطوات الأكسدة بأسهم مستمرة ، وخطوات الاختزال بأسهم متقطعة ، والتفاعلات التى لا يحدث فيها تغير فى مستوى الأكسدة بأسهم متقطعة .

بوليمكسا Bacillus polymyxa ومنها ما هو لا هوائي مثل بعض البكتيريا الممثلة للضوء وبعض أفراد الجنس كلوستريديوم Clostridium .

(٢) تقوم المجموعة الثانية من البكتيريا بتثبيت النيتروجين أثناء معيشتها معيشة تكافلية مشاركة مع نبات ويسمى التثبيت النيتروجيني التعاوني Symbiotic Nitrogen fixtion وأكثر البكتيريا شهرة في هذا النوع من التثبيت النيتروجيني هي أفراد الجنس رايزوبيم Rhizobium والتي تغزو الشعيرات الجذرية للنباتات البقولية وتكون ما يعرف باسم العقد Nodules الجذرية . ويتم تثبيت النيتروجين في هذه العقد الجذرية بواسطة البكتيريا بينما يكون دور النبات هو تزويد البكتيريا بالوسط (أو البيئة) المناسبة التي تشجع تثبيت النيتروجين .

والتثبيت النيتروجيني التعاوني بواسطة الرايزوبيم والبقوليات أكثر بكثير مما يتم بواسطة الأحياء الدقيقة حرة المعيشة . ولما كان تثبيت النيتروجين في صناعة الأسمدة يتطلب مصاريف مرتفعة وكميات كبيرة من الطاقة .. ونظرا لمشاكل نقص الغذاء وبصفة خاصة البروتينات فان التثبيت النيتروجيني التعاوني يشكل أهمية خاصة لسد النقص في الغذاء البروتيني للانسان وقد أصبح هذا الموضوع محور العديد من الدراسات بهدف استنباط نباتات قادرة على المعيشة تكافليا مع بعض البكتيريا المثبته للنيتروجين . وقد أمكن فعلا استنباط العديد من تلك النباتات ولكن ليس بينها حتى الآن نباتات أحد محاصيل الحبوب الرئيسية كالقمح أو الذرة أو الأرز أو حتى محاصيل العلف مثل الحشيش الأخضر .

وكما رأينا فان النباتات تعتمد على النيتروجين المثبت أو على أملاح الأمونيوم أو أملاح النيترات وكذلك العديد من الأحياء الدقيقة . كما أن بعض الأحياء الدقيقة تستخدم نيتروجين عضوى كمصدر نيتروجيني .

وتستخدم المواد النيتروجينية العضوية التي تبنيها النباتات والطحالب كمصدر للنيتروجين لأفراد المملكة الحيوانية . وعند هضم

المواد العضوية النيتروجينية فى أفراد المملكة الحيوانية فان النيتروجين يظل عند نفس مستوى الأكسدة تقريبا عند دخوله فى بناء أنسجة الحيوان . والحيوانات تفرز نسبة لا بأس بها من المواد النيتروجينية بصور مختلفة فى فضلاتها ، وعندما تحتوى الفضلات على مواد عضوية نيتروجينية فانها سريعا ما تتحول من خلال المعدنة الى أمونيا وثانى أكسيد الكربون ، أما المركبات العضوية التى يتم تثبيتها فى جسم النبات والحيوان فانها لا تنطلق الا بعد موت هذه الكائنات وتحللها بواسطة الأحياء الدقيقة فى أثناء خطوة المعدنة الى أمونيا وثانى أكسيد الكربون . وتسمى العملية التى تؤدى الى تحلل البروتينات المختلفة والأحماض النووية الى أمونيا باسم النشدرة Ammonification .

ب — النشدرة : Ammonification

وهى عملية تحويل البروتينات الى أمونيا . وقد تتم هذه العملية لا هوائيا فتسمى تعفن وينتج عنها روائح كريهة ولا تكون مصحوبة بتكوين الأمونيا مباشرة ، بل تتحول البروتينات الى أمينات ومركبات وسطية مختلفة ، والتحلل اللاهوائى للبروتينات عادة يحدث بواسطة أفراد الجنس Clostridium . وفى وجود الهواء تتأكسد هذه الأمينات والمركبات الوسطية بواسطة بكتيريا أخرى وتنتج أمونيا وثانى أكسيد الكربون .

جـ — النترتة : Nitrification

وهى عملية تحول الأمونيا NH_3^+ الى نيترات NO_3^- وتتم هذه الأكسدة فى الطبيعة بواسطة مجموعتين من البكتيريا على درجة عالية من التخصص ، وكلاهما هوائى لجبارى وذاتى التغذية كيميائيا Chemoautotrophic وتحدث عملية النترتة فى مرحلتين .

فى المرحلة الأولى .. تتأكسد الأمونيا الى نيتريت Nitrite (NO_2^-)
بواسطة البكتيريا التابعة لجنس نيتروزوموناس Nitrosomonas.

وفى المرحلة الثانية .. يتحول النيتريت الى نيترات Nitrate (NO_3^-)
بواسطة البكتيريا التابعة لجنس نيتروباكتر Nitrobacter . وكنتيجة مباشرة لنشاط هاتين المجموعتين من البكتيريا ، وتتحول الأمونيا (الناتجه عن خطوة المعدنة Mineralization للمواد العضوية) الى نيترات فى التربة . وتستخدم النيترات كمصدر نيتروجين أساسى لنمو النباتات فى تلك التربة . والأساس فى تسميد التربة بالسماد البلدى (فضلات الحيوانات والطيور) يعتمد أساسا على المعدنة بالأحياء الدقيقة والتى تتضمن النشدرة (أو تحول النيتروجين العضوى الى أمونيا) ثم تحول تلك الأمونيا الى نيترات (" النترتة) ، كما أن الرى بمحاليل مخففة من الأمونيا ـ وهو أحد الطرق الحديثة فى التسميد وخاصة فى الأراضى الحمضية ـ يعتمد بصفة مباشرة على عملية النترته . والأمونيا هى أكثر صور النيتروجين المرتبط تركيزا للنيتروجين ، اذ تحتوى على حوالى ٨٢٪ نيتروجين بالوزن ، ولكن الأمونيا يعاب عليها أنها أقل ثباتا فى التربة ، أما النيترات فيعاب عليها شدة الذوبان فى الماء ، ولذلك فانه يسهل فقدها من التربة فى مياة الصرف ، ولذلك فان كميات ثابتة من النيترات يتم ازالتها باستمرار من القارات الى مياه البحار والأنهار والمحيطات . وقد لوحظ فى بعض مواقع خاصة مثل المناطق شبه القاحلة Semi arid فى دولة شيلى كميات كبيرة من النيترات ترسبت فى التربة كنتيجة لغسل النيترات بواسطة الماء ثم تبخر الماء السطحى ، وقد استخدمت تلك النيترات كمصدر قيم للتسميد لفترة من الزمن . الا أن أهمية هذا المصدر للتسميد قد تضاءلت كثيرا فى الوقت الحالى نظرا لامكانية صناعة النيتروجين المرتبط من النيتروجين الجوى والمتوفر بكثرة فى جميع بقاع الأرض.

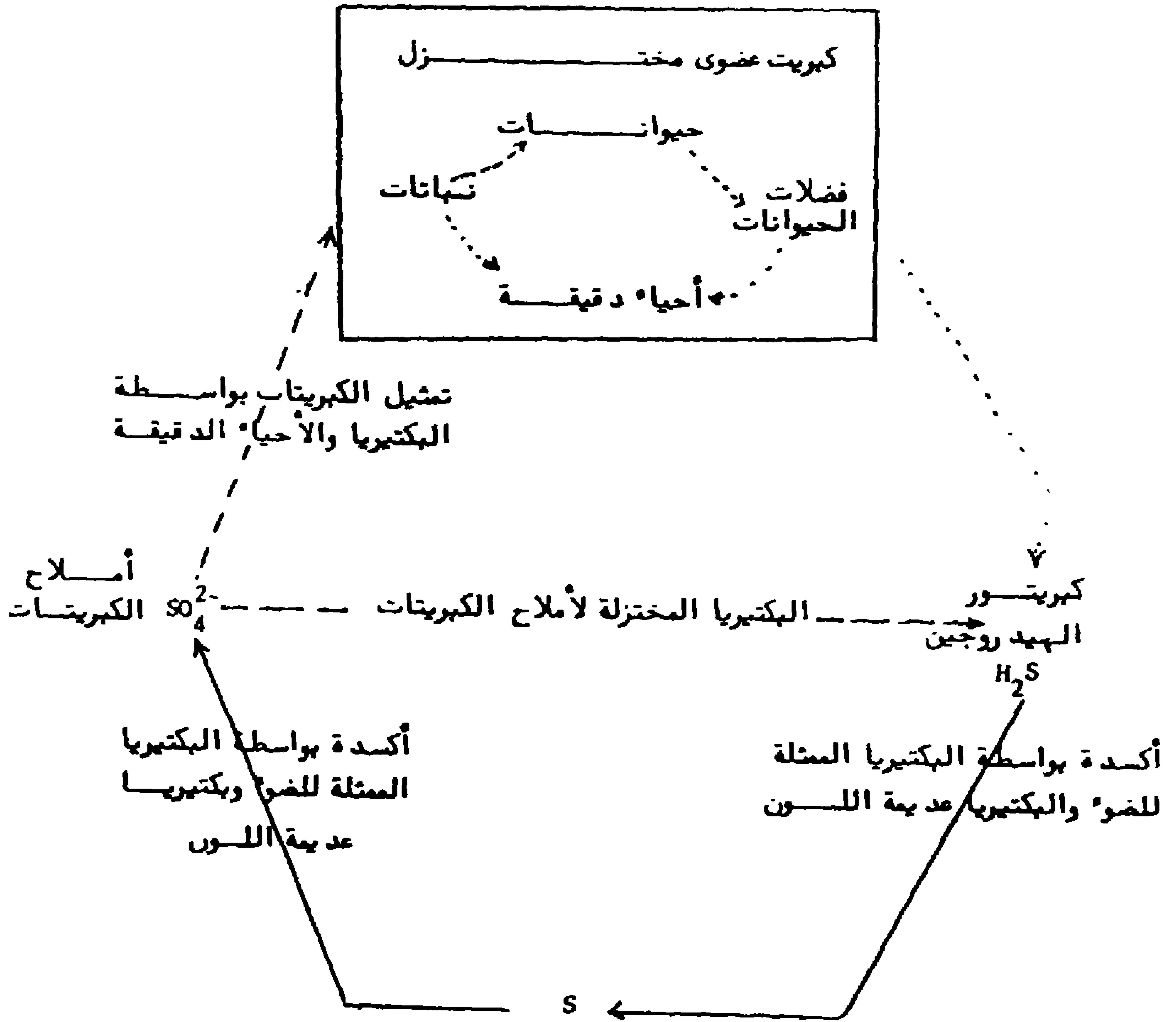
د ـ اختزال النيترات: Denitrification

يستطيع عدد من البكتيريا الهوائية استعمال النيترات بديـــلا للأكسجين ـ وذلك كمستقبل لأزواج الالكترونيات فى عمليات التنفـــس عند عدم توفر الأكسجين (عندما تكون الظروف لا هوائية) • ولذلـــك عندما تتحلل المواد العضوية فى التربة أو الماء ، ويقل تركيز الأكسجين الى حد الانعدام ، فان بعض البكتيريا الهوائية تستمر فى النمو اذا وجدت أملاح النيترات وذلك عن طريق التنفس اللاهوائى ، وينتج عـــن ذلك اختزال النيترات • وتختلف نواتج هذا الاختزال ، فبعض البكتيريا مثل بكتيريا القولون Escherichia coli تستطيع اختزال النيتـــرات NO_3^- الى مستوى النيتريت NO_2^- بينما تستطيع بكتيريا سود ومونـــاس اريجينوسا Pseudomonas aeruginosa اختزال النيترات الى مستوى النيتروجين الغازى الذى يفقد من التربة أو الماء ، وبذلك فـــان النيتروجين المرتبط NO_3^- يفقد الى الهواء الجوى فى صورة غـــاز نيتروجين • ولذلك قد تسمى هذه العملية أحيانا عملية نزع النيتـــرات Denitrification وهذه العملية هامة جدا من الناحية البيئية ، فهـــى تؤدى الى فقد عنصر غذاء هام للنباتات من التربة ، وينتج عن ذلـــك انخفاض فى انتاجية التربة من المحاصيل ، وقد تؤدى عملية اختـــزال النيترات المذكورة ـ تحت بعض الظروف ـ الى فقد أكثر من نصف سمـــاد النيترات الذى يضاف للتربة بهدف زيادة انتاجيتها من المحاصيـــل ، ورغم هذا الفقد الواضح الناتج عن اختزال النيترات بواسطة الأحيـــاء الدقيقة ، الا أن هذه العملية على درجة كبيرة من الأهمية فى الطبيعة فأملاح النيترات شديدة الذوبان فى الماء ، لذلك فانها تفقد باستمرار من القارات الى المحيطات • وبدون خطوة اختزال النيترات المذكـــورة فان كل النيتروجين فى الطبيعة بما فى ذلك نيتروجين الهواء الجـــوى سيتراكم فى قاع المحيط فى صورة نيترات مؤديا الى اختفاء كثير من صـــور الحياة على الأرض • ولكن خطوة اختزال النيترات تؤدى الى اعـــادة توليد النيتروجين منها واطلاقه فى الهواء الجوى لاعادة استخدامـــه بواسطة سائر الأحياء وتتم هذه العملية أساسا بواسطة الأحياء الدقيقـــة كما سبق الذكر •

٤ ـ دورة الكبريت:

الكبريت هو أحد المكونات الهامة للكائنات الحية على اختلافها · وهو موجود بكثرة فى القشرة الأرضية اما فى صورة أملاح كبريتات ذائبة أو فى صورة كبريت مرتبط فى حالة مركبات عضوية · كما يوجد أيضا فى صورة كبريتور الأيدروجين H_2S كنتيجة لنشاط بعض الأحياء الدقيقة أو كنتيجة لنشاط بعض البراكين · ودورة الكبريت هى الدورة التى يتأرجح فيها الكبريت بين الحالة المؤكسدة والمختزلة خلال الأحياء المختلفة فى الطبيعة ، وهى موضحة فى الشكل (٢ـ٣) وهى تشبه الى حد كبير دورة النيتروجين التى سبق شرحها ·

تقدر كمية الكبريت التى يتم تحويلها سنويا الى كبريتور الأيدروجين H_2S (ينطلق فى الهواء الجوى) بواسطة الأحياء المختلفة الى حوالى ٩٠ مليون طن ، علاوة على حوالى ٥٠ مليون طن كبريت تتحول الى ثانى أكسيد الكبريت SO_2 كنتيجة لحرق زيوت الوقود المستخرجة من آبار البترول ، وتنتج كميات أصغر من كلا الغازين كبريتور الأيدروجين وثانى أكسيد الكبريت (٧ر٠ مليون طن) كنتيجة للنشاطات البركانية · أما كبريتور الأيدروجين فيتأكسد بسرعة الى ثانى أكسيد الكبريت أو ثالث أكسيد الكبريت ، وعند ذوبان هذه الغازات فى الماء فانها تكون اما حمض الكبريتوز أو حمض الكبريتيك على التوالى · وقد يتم تعادل جزء من هذه الأحماض بواسطة الأمونيا الموجودة فى الهواء الجوى ، ولكن أغلب الأحماض تتساقط ثانية على سطح الأرض وتؤدى الى اذابة بعض الصخور والتماثيل المكونة من الأحجار · وقد تأثرت كثيرا فى الوقت الحاضر كثير من الزراعات نتيجة سقوط الأمطار الحمضية (الأمطار التى تحتوى على حمض الكبريتيك الناتج من ذوبان ثالث أكسيد الكبريت المتصاعد من مداخن احتراق الزيوت الغنية فى الكبريت) ·· وفيما يلى أهم ملامح دورة الكبريت:



شكل ٢ ـ ٣ : دورة الكبريت ٠٠ مثلت خطوات الأكسدة بأسهـم مستمرة وخطوات الاختزال بأسهم متقطعة والتفاعلات التـــى لم يحدث فيها تغير فى مستوى الأكسدة والاختزال بأسهـــم منقطـــة ٠

أ ـ استعمال الكبريتات كمصدر للكبريت Sulfate assimilation للأحياء الدقيقة :

تستخدم أملاح الكبريتات SO_4^{2-} كمصدر للكبريت للنباتات والأحياء الدقيقة مثلها فى ذلك مثل أملاح النيترات NO_3^- كمصدر للنيتروجين ، ويتشابه استعمال أملاح الكبريتات وأملاح النيترات بواسطة الأحياء الدقيقة فى نقطتين أساسيتين هما :

(١) أن ذرة النيتروجين فى جزيء النيترات وذرة الكبريت فى جزيء الكبريتات يجب أن يختزلا قبل ادخالهما فى تركيب المواد العضوية الخلوية ، وذلك لأن الكبريت يتواجد فى معظم الأحوال فى جميع الأحياء بصورة مختزلة SH أو - S - S -.

(٢) فى كلا الحالتين (النيتروجين والكبريت) تستخدم كمية كافية فقط للنمو دون أن تفرز الخلايا أى فضلات نيتروجينية أو كبريتية مختزلة فى الوسط المحيط او البيئة ٠

ب ـ تحول مركبات الكبريت العضوي وانتاج كبريتور الأيدروجين :

أثناء عملية المعدنة Mineralization تتحلل المركبات العضوية المحتوية على الكبريت منتجه كبريت فى الصورة المختزلة على صورة كبريتور الأيدروجين H_2S ٠ وهذه الخطوة تشبه الخطوة المسماة النشدرة Ammonification فى دورة النيتروجين والتى يتم اثناءها تحول النيتروجين من صورته العضوية الى صورته المختزلة NH_3^+ .

جـ ـ التكوين المباشر لكبريتور الأيدروجين من الكبريتات:

ان استعمال أملاح الكبريتات كمصدر للكبريت يؤدى الى تحويل

الكبريتات الى كبريتور الأيدروجين تمهيدا لادخاله فى بناء الخلية . ولكن انتاج كبريتور الأيدروجين من الكبريتات يتم بطريقة أخرى أكثر مباشرة من خلال نشاط البكتيريا المختزلة للكبريتات . حيث تعمل الكبريتات كمستقبل (بديلا عن الأكسجين) لأزواج الالكترونات الناتجة فى التنفس فتتحول الكبريتات الى كبريتور الأيدروجين ، وتشبه هذه الخطوة ما يحدث من اختزال النيترات فى دورة النيتروجين ونشاط البكتيريا المختزلة للكبريتات يكون واضحا فى الطين الموجود فى قاع المستنقعات الغنية فى الكبريتات حيث تظهر رائحة كبريتور الأيدروجين الكريهة كما تظهر الطين بلون أسود واضح راجع لترسب كبريتور الحديد الأسود .

د ـ أكسدة كبريتور الأيدروجين والكبريت:

ينتج كبريتور الأيدروجين فى الطبيعة كنتيجة لتحلل المركبات العضوية المحتوية على كبريت أو كنتيجة لاختزال الكبريتات بواسطة بعض الأحياء الدقيقة ، وكذلك بواسطة النشاطات البركانية . ويتحول كبريتور الأيدروجين الناتج الى أملاح كبريتات ثانية فيما عدا كمية صغيرة منه تتحول الى صور غير ذائبة من أملاح الكبريتور أو عنصر الكبريت . وتحدث أكسدة كبريتور الأيدروجين أو عنصر الكبريت بواسطة بكتيريا ممثلة للضوء من النوع ذاتى التغذية كيميائيا . وحيث أن أيون الأيدروجين ينتج فى التفاعل الناتج عن أكسدة أملاح الكبريتور والكبريت ، فان التربة تصبح حمضية ، ولذلك فان اضافة الكبريت تستخدم عادة فى الأراضى القلوية بهدف انتاج حموضة لتحسين خواص التربة .

وبعد مراجعة الدور الذى تلعبه الأحياء الدقيقة فى دورات العناصر يتضح أن الأحياء الدقيقة تلعب دورا هاما فى التغيرات الحيوية التى تتعرض لها عناصر الحياه على الأرض . ومن هنا تكون أهميتها المطلقة فى نظام الحياة على الأرض ، ذلك بأن الكائنات الراقية سرعان ما ينتهى وجودها بدون الأحياء الدقيقة .

ثانياً : دور الأحياء الدقيقة فى خصوبة التربة

وضح من مناقشة دورة العناصر فى الطبيعة الدور الكبير الذى تلعبه الأحياء الدقيقة فى خصوبة التربة المختلفة. فبينما تستطيع بعض الأحياء الدقيقة زيادة خصوبة التربة بزيادة النيتروجين المرتبط مثل البكتيريا المثبته النيتروجين أو بكتيريا النترتة (التى تؤدى الى تحويل الأمونيا الى نيترات) فان بعض البكتيريا تزيد خصوبة التربة نتيجة تحسين خواص تلك التربة ، فاذا كانت التربة قلوية الخواص فانه يعمد الى اضافة الكبريت بهدف تشجيع نمو البكتيريا التى تقوم على أكسدة الكبريت لانتاج غازات ثانى اكسيد الكبريت وثالث اكسيد الكبريت ذات الصفات الحمضية التى تحسن صفات التربة وتزيد خصوبتها ، كما أن الأراضى الحمضية كثيرا ما تروى بمحاليل مخففة من الأمونيا بهدف زيادة محتوى الأرض من النيترات بفعل بكتيريا النيتروزوموناس والنيتروباكتر. ويمكن الرجوع الى الجزء أولا لمعرفة المزيد من المعلومات فى هذا الصدد و بالعكس من ذلك فان تشجيع نمو البكتيريا التى تؤدى الى اختزال النيترات يؤدى الى فقد فى خصوبة الأراضى كما سبق ذكره.

كما تؤدى الظروف البيئية للأراضى الى تشجيع نمو أحياء دقيقة معينة دون أحياء أخرى.. ولذلك فانه كثيرا ما يمكن التحكم فى صفات التربة باتباع أساليب معينة كالحرث والرى وغيرها ، وعلى سبيل المثال فان اغراق الأراضى الغنية فى المواد العضوية يؤدى الى تقليل كمية الأكسجين المتاحة للأحياء الدقيقة فى مثل تلك الأراضى بما يشجع نمو البكتيريا اللاهوائية والتى تنتج أحماض عضوية مثل حمض الخليك Acetic Acid والفورميك Formic والبيوتريك Butyric كما تتكون أحيانا أحماض اللاكتيك Lactic والسكسينك Succenic ومثل تلك المركبات تكون عاملا محددا لنمو الجذور. بينما يؤدى الحرث الجيد للتربة الى حدوث تهوية وتشجيع نمو الميكروبات الهوائية بما يقلل من عمليات اختزال النيترات والكبريتات وغيرها.

ثالثاً : دور الأحياء الدقيقة فى تكوين الوقود الحفرى

(زيت البترول والغاز والفحم)

تراكم الأحماض العضوية فى الأراضى العضوية المغمورة بالماء نتيجة استهلاك الأكسجين بواسطة ميكروبات التربة الهوائية فيشجع ذلك نمو الميكروبات اللاهوائية التى تنتج الأحماض العضوية بما يؤدى الى تراكم الدبال Humus وتسمى هذه الظاهرة باسم Beat bogs ، ويؤدى تراكم تلك المواد العضوية على مر السنين فى تلك الظروف اللاهوائية الى تكوين رواسب الفحم والزيت وغاز الوقود والتى قد تمتد لمئات الأمتار تحت سطح الأرض ، ولو أن هذا هو ما يعتقده الكثير من العلماء ، الا أن انتاج البترول بواسطة الأحياء الدقيقة مازال مسألة معلقة حيث لم ينجح أحد فى انتاج البترول فى المختبر بواسطة الأحياء الدقيقة بكميات تجارية ، ولكن خواص زيت البترول تجعل من المحتمل أن يكون قد تكون من مواد عضوية كما يأتى :

(١) الترسبات البترولية غنية بالبكتيريا اللاهوائية وبخاصة البكتيريا المختزلة للكبريتات ٠٠ والمعروف حاليا أن البكتيريا المختزلة للكبريتات يرتبط وجودها برواسب الكبريت ٠ وقد وجد العلماء ـ فضلا عن ذلك ـ بعد نجاحهم فى الكشف عن مركبات شبيهة بالبترول فى مزارع الميكروبات أن هذه المركبات تكونت فى مزارع مختلفة تحتوى على البكتيريا المختزلة للكبريتات٠

(٢) يمكن الكشف فى البترول الخام عن مركبات تسمى البورفيرينات porphyrins وهى مواد كيميائية مشتقة من الانزيمات التنفسية للميكروبات الحية ، والمعروف أنها لا توجد بمعزل عن الكائنات الحية٠

(٣) أن بعض المواد الكربونية فى البترول تكون نشطة ضوئيا بما يدل أنها نشأت من أنظمة بيولوجية ٠

رابعًا : دور الأحياء الدقيقة فى التخلص من فضلات المجارى وفضلات المصانع

نتيجة لزيادة تركيزات السكان فى المدن يمثل التخلص من الفضلات مشكلة خاصة ، وقد كان ذلك يسيرا فى الماضى عندما كانت أعداد السكان أقل مما هى عليه الآن . فقد كان الرومان واليونانيون يبنون حماماتهم ودورات المياه فوق المياه الجارية أو قريبا منها . وفى العصور الوسطى خصصت زوايا مهجورة تستخدم كدورات مياه ، وكانت القمامة تلقى فى الشوارع .

ولما انتصف القرن التاسع عشر وزاد عدد السكان فى المدن نتيجة الثورة الصناعية أصبح من الواضح أن هذا السلوك خطير كما أنه غير مقبول . وكانت أمراض التيفود والكوليرا متفشية ، وأصبح نهر التيمز (فى بريطانيا) فى عام ١٨٦٠ مصبا مفتوحا عظيما للمجارى ، وكانت تجرى فيه نفايات لندن التى تجرفها مياه الأمطار .

ثم استخدمت فضلات المجارى لرى بعض الزراعات لاحتوائها على نسبة مرتفعة من المواد العضوية . ولكن لأسباب تستدعيها الصحة العامة للناس والمحافظة على البيئة ولامكانية اعادة استعمال المياه أصبح من الضرورى استنباط وتطوير طرق صحية لمعالجة مياه المجارى والاستفادة من الفضلات . وقد صممت مصانع لمعالجة المجارى بحيث تستفيد من قدرة الأحياء الدقيقة فى معدنة المواد العضوية الموجودة فى فضلات المجارى والاستفادة من هذه الفضلات فى انتاج غاز الوقود (الميثان) وتنقية المياه بالطرق المناسبة .

ومما يجدر ذكره أن مجرد التخلص من الأحياء الدقيقة والفضلات العضوية فى مياه المجارى ليس كافيا . فقد ثبت أن مثل تلك المياه (بعد ازالة الأحياء الدقيقة والفضلات العضوية) تحتوى على نسب مرتفعة من أملاح النيترات والفوسفات . وعند صرف مثل تلك المياه فى البحيرات أدى ذلك الى ازدهار نمو الطحالب ازدهارا كبيرا أدى الى

تعكر البحيرات وتلونها بلون الطحالب النامية وأدى ذلك الى انخفاض تركيز الأكسجين من مياه البحيرات مما هدد حياة الأسماك والحياة البحرية فى البحيرات. وقد حدث ذلك على وجه الخصوص فى البحيرات العظمى Great lakes فى الولايات المتحدة وخاصة بحيرة ايرى Erie كما أن المياه المحتوية على تركيزات مرتفعة من النيترات ضارة بالانسان أيضا ، لذلك نصت التشريعات الحديثة فى الولايات المتحدة على أن المياه المستخدمة للشرب لا يجب أن تحتوى على أكثر من ١٠ ملليجرام فى اللتر.

ولا يقتصر استخدام الأحياء الدقيقة على التخلص من فضلات المجارى فقط ، بل أن النفايات السائلة (الناتجة عن المذابح وكثير من مصانع الأغذية والألبان وغيرها من الصناعات التى تنتج نفايات غنية فى المواد العضوية بحيث يصعب استيعابها فى مصانع معالجة مياه المجارى العادية) يتم معالجتها أيضا بالطرق البيولوجية وتشترط تشريعات كثير من الدول اقامة وحدات لمعالجة الفضلات لمصانع معينة مثل مصانع الأغذية ، وتسمى العملية باسم المعالجة البيولوجية للفضلات السائلة. وكثيرا ما تشكل فضلات المصانع عاملا محددا لقيام صناعة ما. وتلجأ كثير من المصانع حاليا الى محاولة الاستفادة من الفضلات بتحويلها الى منتجات ثانوية ذات قيمة اقتصادية بواسطة الأحياء الدقيقة. فالمولاس الناتج من صناعة السكر قد يستخدم لانتاج الكحول الصناعى أو لانتاج الخميرة.

كما تستخدم فضلات مصانع تعليب وتجميد الأغذية لانتاج مركبات عضوية مختلفة سنتعرض لها فيما بعد. ويتحدد نجاح كثير من الصناعات وقدرتها على المنافسة بمدى الاستفادة من المخلفات الثانوية.

كما تستخدم سلالات خاصة من البكتيريا للتخلص من فضلات كيميائية لمصانع المواد الكيميائية أو مصانع الورق التى تنتج فضلات سائلة تحتوى على مواد سامة أو مثبطة لنشاط البكتيريا ، ولذلك تنتخب السلالات الخاصة من البكتيريا التى تقاوم فعل مثل تلك المواد السامة.

خامسًا : دور الأحياء الدقيقة فى التخلص من فضلات البترول والهيدروكربونات

تقوم ناقلات البترول الضخمة بغسيل مستودعاتها بمياه البحار والمحيطات أحيانا مسببة تلوث تلك المياه بالمواد البترولية المختلفة وهذه المخلفات البترولية يسهل معدنتها بالأحياء الدقيقة فى زمن قصير نسبيا • ولكن غرق مثل تلك الناقلات المحملة بالبترول فى البحار أو انسكاب كميات ضخمة من البترول فى مياه البحار كثيرا ما يسبب مشاكل بيئية جمة اذ أن فعل الأحياء الدقيقة يكون عادة بطيئا على الهيدروكربونات البترولية ، كما أن معدنة هذه المكونات تتم بواسطة أحياء دقيقة هوائية اجبارية بما يسبب نقص تركيز الأكسجين فى المياه مما يشكل خطورة على الحياة البحرية • وقد حدثت كارثة هائلة من ذلك النوع فى ربيع عام ١٩٦٧م عندما تحطمت ناقلة بترول ضخمة تسمى كانيون Torrey Canyon على شاطئ انجلترا الجنوبى الغربى وسكبت آلاف الأطنان من البترول فى البحر لتلوث بذلك شواطى انجلترا وفرنسا ، ومما يؤسف له أن المختصين فى ذلك الوقت استخدموا المنظفات كعلاج طارئ لتنظيف الشواطئ ولم يكن ذلك من الحكمة فى شئ لأن أغلب المنظفات عبارة عن مطهرات تؤخر أو تثبط عمل الأحياء الدقيقة • وقد أدى هذا التلوث ليس فقط الى انزعاج الناس ، ولكن أيضا الى قتل آلاف من طيور البحر والأسماك والمحار والقشريات •

ولا يقتصر التلوث بالهيدروكربونات على مياه البحار والمحيطات فقط ، بل انه كثيرا ما تمتد للأراضى الزراعية.فكثير من المبيدات الحشرية والفطرية ومبيدات الحشائش عبارة عن مواد محورة من الهيدروكربونات ومدة تحليل هذه المركبات فى التربة ينعكس على مدة بقاء تأثيرها كمبيدات للآفات ، ولذلك فان استخدام الميكروبات للهيدروكربونات وللمركبات الأخرى المشابهة يصبح له أهمية زراعية وبيئية كبيرة ، ومما يجدر ذكره هنا أن تلوث التربة فى بلدة سماردن Smarden فى مقاطعة كنت Kent فى بريطانيا بمادة الفلوراسيتاميد ـ وهى مادة سامة قوية كانت تستخدم كمبيد حشرى عام ١٩٦٣م ـ حدت بالسلطات

الى ازالة التربة الملوثة كلها للتخلص من هذا المبيد مما كلف الكثير من الأموال ، وقد ثبت بعد ذلك بعض البكتيريا قادرة على تحليل المبيد الى مكونات غير سامة مما يوفر حلا سريعا وفعالا . وتوجد الآن امكانات مشجعة بخصوص استخدام الميكروبات لازالة المواد السامة أو غير المرغوبة من البيئة الطبيعية ، ولكن هذه الامكانات مازالت بغير استغلال كبير فى الوقت الراهن . ، وتدل قصر مدة بقاء الأنواع العديدة من الهيدروكربونات فى التربة الى وجود مجموعات ميكروبية تقوم باستخدامها بشراهة . فالمركبات التى يمكن للميكروبات استخدامها تشتمل على البرافين والكيروسين والجازولين وزيوت التشحيم المعدنية والأسفلت والقطران والمطاط الطبيعى والصناعى . كما يتحلل أيضا الميثان والايثان والبروبان والبيوتان والبنتان والهكسان وكثير من الهيدروكربونات ذات التركيب من نوع C_nH_{2n+2} .

وقد تصل الهيدروكربونات الى التربة فى صورة زيت بترول خام أو غاز الوقود الطبيعى ، وذلك فى المواقع القريبة من آبار البترول ، أو نتيجة رشح الأنابيب الناقلة له . واذا زاد تلوث التربة بالبترول تتأثر النباتات بشدة ، وقد تنقضى فترة طويلة قبل أن تصلح الأرض للزراعة بطريقة اقتصادية مرة ثانية ، وذلك يعتمد بالطبع على كمية التلوث والطرق المستخدمة للتخلص منه .

وقد اقترح البعض امكانية الاستدلال على أماكن وجود البترول فى الطبيعة بالكشف عن البكتيريا المؤكسدة لمكوناته . فان وجدت مثل تلك البكتيريا فى منطقة ما فذلك يدل على احتمال وجود البترول فى تلك المنطقة .

وقد أدى الاهتمام بموضوع تلوث البيئة الى الاهتمام باستخدام الأحياء الدقيقة لغاز الاثيلين ، فهذا الغاز من أكثر المركبات الهيدروكربونية فى تلوث الهواء ، حيث أن هناك ملايين الأطنان المترية منه تنطلق الى الهواء باستمرار مع احتراق جازولين السيارات بصفة خاصة وبالرغم من ذلك فان معدل وجود هذا الغاز فى الهواء الجوى خارج

المدن لا يتزايد بصفة مستمرة ، فهو يوجد بنسبة أقل من ٠٠٥ر٠ جزء في المليون وقد أوضحت نتائج الأبحاث الى أن عدم زيادة هذا الغاز في الهواء ترجع الى نشاط الأحياء الدقيقة الموجودة في التربة ، وتحتاج عمليات تمثيل هذا الغاز الى الأكسجين حيث تتوقف العملية في الظروف اللاهوائية ٠

سادسًا : دور الأحياء الدقيقة في
الاستفادة من الفضلات الزراعية وفضلات القمامة

تثبت النباتات كميات كبيرة من الطاقة الضوئية وثاني اكسيد الكربون في صورة طاقة كيميائية مخزنة في المادة العضوية لجسم النبات٠ ولكن جرت عادة الانسان على الاستفادة بنسبة صغيرة جدا من المادة العضوية للنبات كما هو الحال في محاصيل الحبوب كالقمح والأرز والذرة وغيرها حيث يتم الاستفادة من الحبوب فقط ، أما باقي النبات فيحرق أو يتم التخلص منه بطريقة أو بأخرى ٠ ويمثل هذا اهدارا كبيرا لكميات كبيرة من الطاقة الموجودة في تلك المواد العضوية ٠ وقد بدأت حاليا اتجاهات الأبحاث للاستفادة من هذه المخلفات الزراعية والتي تصل الى ملايين الأطنان سنويا ٠ وأحد أهم هذه الاتجاهات هو تحويل هذه الفضلات الى بروتينات وحيدة الخلية Single cell protein وذلك بهدف الاستفادة منها ولو في صورة علف حيواني ، والذى يتحول بدوره الى لحم أو بيض أو لبن بواسطة الحيوانات المختلفة فيساعد بذلك في سد النقص في الغذاء العالمي ٠

كما يشكل تراكم القمامة مشكلة بيئية كبيرة بالنسبة للمدن المزدحمة بالسكان ، وكثيرا ما يتم تجميع هذه القمامة في أماكن خارج المدن ويتم حرقها ، وبالمثل فان حرق هذه القمامة يشكل فقدا في كميات كبيرة من المادة العضوية والتي يمكن الاستفادة منها عن طريق تحويل المادة العضوية بها بواسطة الأحياء الدقيقة الى علف حيواني أو سماد أو غيرها

٠٠ والمشكلة الأساسية فى الاستفادة من القمامة ترجع الى تكوينها من مواد مختلفة قابلة وغير قابلة للتخمر ، علاوة على فضلات الأغذية ، حيث تحتوى القمامة علاوة على كثير من المواد غير القابلة للتخمر (يمكن اعادة استخدام بعضها) مثل الزجاجات الفارغة والعلب المعدنيةوالبلاستيكية وورق الجرائد والكتب والمجلات والثياب والمطاط وغير ذلك من المواد ٠ ومازالت هناك دراسات كثيرة بهدف تقليل نفقات فرز القمامة الى مكوناتها وقد اقترح البعض أن يتم تجميع القمامة بواسطة نوعين من الأكياس بألوان مختلفة ، وليكن أحمر وأزرق مثلا ، ويخصص اللون الأحمر على سبيل المثال للقمامة غير القابلة للتخمر والتى يمكن اعادة استخدامها ، ويخصص اللون الأزرق للقمامة القابلة للتخمر مع عمل الحملة الدعائية المناسبة لتوعية الناس ، وبذلك يمكن توفير خطوة الفرز المبدئى للقمامة ، وهى خطوة مكلفة يتعذر معها حاليا الاستفادة من القمامة بطريقة اقتصادية ٠

ومما لا شك فيه أن اساءة استخدام الموارد الحالية لكوكبنا على النحو الذى يتجه اليه الناس حاليا سيجعل الاستفادة من القمامة بشقيها أمرا لا مفر منه حيث تحول القمامة القابلة للتخمر الى مصدر للطاقة أو علف حيوان بواسطة الأحياء الدقيقة ، أما القمامة غير القابلة للتخمر فيعاد استعمالها ٠

سابعًا : دور الأحياء الدقيقة فى الصناعات الغذائية وتلف الأغذية

استخدمت الخميرة من قديم الزمان لتحسين قوام الخبز وطعمه ، وتدل الدراسات على أن المصريين هم أول من استعمل الخميرة لتخمير الخبز وزيادة حجمه أثناء الخبيز قبل ٦٠٠٠ عام٠ ثم انتشر استعمال الخميرة من هناك الى جميع مناطق العالم ، ويتم خلط خميرة الخباز <u>Saccharomyces cervisiae</u> بالدقيق بعد ترطيبه بالماء لتكوين عجينة مناسبة القوام ثم تترك فى مكان دافئ وقد تضاف كميات صغيرة من السكر لتشجيع عمل الخميرة التى تقوم بعملية التخمر الكحولى منتجة

غاز ثانى اكسيد الكربون والكحول . ويتمدد غاز ثانى اكسيد الكربون اثناء الخبيز مكسبا الخبز قواما أسفنجيا ، أما الكحول فيتطاير ولا يقتصر تأثير الخميرة على ذلك ، بل أنها تكسبة – أى الخبز – طعما مرغوبا لا يمكن تعويضه باستعمال مساحيق الخبيز Baking powder التى تستخدم لانتاج غاز ثانى اكسيد الكربون فى بعض المخبوزات الأخرى .

أما استخدام الخميرة فى انتاج المشروبات الكحولية ، فقد تضاربت الآراء حول مصدره ، فالبعض يعتقد أنه بدأ فى مصر والبعض يعتقد أنه بدأ فى الصين . وعلى أى حال فانه يتم تخمير عصائر الفاكهة أو المحاليل التى تحتوى على سكريات قابلة للتخمر بواسطة الخميرة فى ظروف لا هوائية فتنتج المشروبات الكحولية المختلفة . ومن البداية استخدمت هذه العملية للحصول على المشروبات الكحولية فقط ولكن بحدوث الثورة الصناعية زاد الطلب على الكحول كمذيب فتطورت مصانع تقطير الكحول من المواد المتخمرة تخمرا كحوليا .

كما استخدمت بعض الأحياء الدقيقة فى صناعات الأغذية ومنتجات الألبان فأستعملت بكتيريا حمض اللاكتيك فى انتاج الألبان المتخمرة (كالزبادى واللبنة والروب) والجبن والزبد والقشدة المتخمرة بهدف اكساب تلك المنتجات طعما مرغوبا وزيادة مدة بقاءها دون تلف لفترات زمنية أطول . وتقوم بكتيريا حمض اللاكتيك Lactobacilli بتحويل سكر اللبن (اللاكتوز Lactose) الى حمض لاكتيك Lactic acid فى المنتجات اللبنية . . والذى يعزى اليه زيادة مدة حفظ تلك المنتجات واكسابها طعما حمضيا . كما أن الكثير من البكتيريا المستخدمة فى صناعات الألبان تنتج مواد خاصة تكسب المنتجات المختلفة مذاقا ورائحة خاصة تتميز بها . وقد لا يقتصر نشاط بكتيريا حمض اللاكتيك على خطوات التصنيع فقط كما فى صناعة الزبادى ، بل قد يمتد الى ما بعد التصنيع ، فتقوم البكتيريا بدور هام فى تسوية أو تعتيق الجبن والزبد ، ولا تقتصر صناعة الجبن على استخدام بكتيريا حمض اللاكتيك فقط ، فهناك بكتيريات أخرى مثل بكتيريا حمض البروبيونيك تستخدم فى صناعة الجبن السويسرى ، كما يستخدم أحد الفطريات وهو فطر Penicillium roquoforti فى تسوية الجبن الركفور .

كما تستعمل بكتيريا حمض اللاكتيك في تخليل كثير من الخضر والفاكهة ، وكانت تتم هذه العملية في الماضي باستعمال بكتيريا حمض اللاكتيك المتوفرة طبيعيا على الخضروات والفاكهة بهدف حفظ الخضروات الزائدة عن الاستهلاك . ولكن تتوفر الآن طرق حفظ أفضل كثيرا من التخليل . ولكن التخليل بواسطة مزارع نقية خاصة (البادئات) مازال شائعا بهدف الحصول على الطعم المميز للمخللات المختلفة . وتقوم بكتيريا حمض اللاكتيك بتحويل السكريات القابلة للتخمر في الثمار الى حمض لاكتيك ومنتجات أخرى مما يكسب المخللات طعما مرغوبا وقوة حفظ ضد غزو الثمار بالأحياء الدقيقة الأخرى ، وقد استغلت بكتيريا حمض اللاكتيك أيضا في صناعة السيلاج ، وذلك بتخمير مواد العلف الأخضر بهدف اطالة مدة بقاءها بدون تلف . كما تستغل بكتيريا حمض الخليك Acetic acid bacteria بهدف انتاج الخل من مواد سكرية رخيصة بعد تحويلها الى كحول ايثايل بواسطة الخميرة وتستغل أحياء دقيقة أخرى في انتاج الفانيللا والقهوة والشاى الأسود (المتخمر) والسترون Citron أو انتاج أغذية اقليمية محلية مثل انتاج جبن وصلصة فول الصويا في اليابان والأسماك المخللة في الصين والبيض المتخمر في كلا من الصين وجزر هاواى . كما أن الأحياء الدقيقة قد استغلت لانتاج الدهون أثناء الحرب العالمية الثانيه مثل الخمائر Candida Pulcharrima, Torulopsis lipofera Rhodotarula glutinis .

وفى الحرب العالمية الاولى استخدمت الفطريات Trichosporon Pullulans, Geotrichum candidum كما تستخدم الخميرة Saccharomyces cervisiae لدعم أغذية سكان المناطق الفقيرة بالبروتينات والفيتامينات وكذلك تستخدم فى أوقات الطوارئ كالحروب.

وعلى الرغم من أن ما ذكر عن دور الأحياء الدقيقة في صناعات الأغذية والألبان حتى الآن يهدف الى تشجيع نمو واكثار أحياء دقيقة معينة بهدف الحصول على منتجات معينة ، الا أن طرق حفظ الأغذية

تهدف بصفة عامة الى قتل أو ازالة أو تثبيط جميع الأحياء الدقيقة بصفة أساسية وذلك لما للأحياء الدقيقة من دور كبير فى اتلاف كميات ضخمة من الأغذية سنويا مع ما تعانيه البشرية حاليا من نقص واضح فى امدادات الغذاء ٠ ومازالت المجاعة التى حدثت فى بعض دول افريقيا حديثا والتى هددت حياة الملايين شاخصة فى الأذهان ٠ والدراسات الحالية ليست قاصرة فقط على مجال تقليل التالف من الأغذية بواسطة الأحياء الدقيقة ، بل تمتد الى محاولة الاستفادة من الأحياء الدقيقة لانتاج أغذية من مواد غير غذائية مثل مخلفات الزراعة والبترول ٠ وقد تم التوصل الى علائق حيوانية غنية فى البروتين من تلك المصادر ، ومازالت هناك محاولات تجرى للحصول على أغذية بشرية من هذه المصادر ٠

أما بالنسبة للتلف الذى تسببه الأحياء الدقيقة للأغذية المختلفة ، فمن المعروف أن التركيب الكيميائى للأغذية معقد للغاية ، فتعددت الأبحاث لدراسة تغيرات المواد العضوية المختلفة والأحياء الدقيقة المسئولة والظروف التى أدت الى تلك التغيرات ٠ وهذه المواد الغذائية المختلفة توفر لأنواع الأحياء الدقيقة خليطا متنوعا من المركبات التى تتباين فى خواصها الفيزيائية والكيميائية ٠

وفيما يلى نقدم عرضا مختصرا لأنواع التلف الميكروبى التى تصيب الأغذية المختلفة ٠

١ـ الحبوب ومنتجاتها :

تتميز الحبوب والدقيق بانخفاض نسبة الرطوبة فيها بما يمنع نمو الأحياء الدقيقة ، ومعظم تلف الحبوب فى هذه الحالة يرجع الى الحشرات ، ويؤدى ارتفاع نسبة الرطوبة فى الحبوب بدرجة بسيطة الى تشجيع نمو الفطريات ، وأكثرها يتبع أجناس Aspergillus, penicillium واذا زادت الرطوبة بمقدار كبير ، فان ذلك يشجع نمو كثير من البكتيريا والخمائر ، وأكثر البكتيريا التى تنمو فى مثل تلك الحالات تتبع أجناس

Bacillus, Lactobacillus, Micrococcus, Psoudomonas وغيرها . أما الخبز فقد يتعرض للتلوث بالفطريات أثناء التقطيع الى شرائح أو أثناء التعبئة فى أكياس وأكثر أسباب تلف الخبز ترجع لنمو الفطريات عليه ، ومن أكثر الفطريات اتلافا للخبز هى فطريات Rhizopus, Penicillium, Asperigillus, Mucor, Neurospora وغيرها . كما أن تخزين الخبز فى جو رطب كثيرا ما يؤدى الى ظهور العيب المعروف باسم التحبل Ropy bread والذى يرجع الى نمو البكتيريا Bacillus subtilis والتى تؤدى الى تحلل مكونات الخبز مكونة منتجات لزجة تشبه الخيوط عند قطع الخبز ، وكثيرا ما يمكن التغلب على هذا العيب فى المناطق الساحلية والمناطق الرطبة بانتاج الخبز المحمض Sour bread وذلك بخلط بكتيريا حمض اللاكتيك مع الخميرة والسماح لها بانتاج حمض اللاكتيك أثناء عملية التخمر ، وبذلك تنتج عجينة ذات pH منخفضة لا تشجع بكتيريا باسيلس Bacillus على النمو ، كما قد يتلون الخبز بلون أحمر أو طباشيرى ، نتيجة نمو بكتيريا أو فطريات أخرى ، وكذلك تتعرض منتجات المخابز الأخرى للتلف بواسطة الأحياء الدقيقة تحت الظروف المناسبة لنمو أحياء دقيقة معينة .

٢ــ السكر والحلويات والأغذية السكرية :

السكر الجاف والمنتجات الجافة لا تتعرض للتلوث بالأحياء الدقيقة نتيجة عدم توفر الرطوبة ، وهى ضرورية لنمو الأحياء الدقيقة . أما المحاليل السكرية والمنتجات المحتوية على سكريات بتركيزات مناسبة لنمو الأحياء الدقيقة كثيرا ما تتلف بواسطة العديد من الأحياء الدقيقة وفقا لظروف التخزين . والتركيز الحافظ للسكر عند pH ٤ أو أقل هو حوالى ٦٥٪ ، وعند هذا التركيز لا تنمو الأحياء الدقيقة ، لذلك تصنع المربات والجيلى بحيث تحتوى ٦٥٪ مواد صلبة ذائبة . ويمكن حفظ مثل تلك المنتجات على درجة حرارة الغرفة لفترة زمنية طويلة دون تلف . وقد يؤدى تكثف الرطوبة على أغطية عبوات المربات عند تعبئتها ساخنة ثم تساقط قطرات الماء على سطح المربى بعد ذلك الى تكوين محاليل

سكرية تقل فى تركيزها كثيرا عن ٦٥٪ بما يسمح بنمو الفطريات التى تسبب تلف المربات بعد تصنيعها ، كما أن أى ظروف تؤدى الى وصول كميات صغيرة من الماء الى سطح المربى والعسل والحلويات والجيلى كثيرا ما تشجع نمو الفطريات والخمائر المحبة للتركيزات المرتفعة من السكر Osmophilic على سطح المربات والأغذية السكرية ، ينتج عن ذلك تغير القوام أو الطعم أو اللون وغيرها .

٣ـ الخضر والفاكهة ومنتجاتها :

بعد جمع محاصيل الخضر والفاكهة وتعبئتها فى صناديق أوأكياس أو سلال أو غيرها ، فان الثمار تصبح عرضة للتلوث من بعضها البعض ، وكذلك من العبوات . خاصة اذا وجدت ثمار مهشمة أو مجروحة أو كانت العبوات تحتوى على مسامير او نهايات حادة تؤدى الى جرح الثمار أو اذا كانت الثمار تعبأ بكميات كبيرة فى الصناديق بحيث يهشم بعضها البعض . ونظرا لاحتواء الفاكهة والخضر على العناصر الغذائية اللازمة لنمو العديد من الأحياء الدقيقة التى تكون مختلطة بالثمار فانه من الضرورى الاسراع بتنظيف الثمار ومعاملتها أو تصنيعها أو فرزها وتعبئتها بأسرع ما يمكن بعد الجمع ، كما يحسن أيضا تبريدها أثناء النقل من الحقول الى المصانع لتقليل نشاط الأحياء الدقيقة أثناء النقل .

ومن الجدير بالذكر أن خطوة الغسيل بالنقع فى بعض مصانع الأغذية قد تكون مصدرا لزيادة التلوث نتيجة عدم تغيير ماء النقع لفترات طويلة بما يسمح بتكاثر الأحياء الدقيقة فيه .

وتتعرض عصائر الفاكهة والخضر أو مستخلصاتها أو عجائنها أو أجزائها للتلف السريع بواسطة الأحياء الدقيقة المختلفة ان لم تحفظ بالطريقة المناسبة بعد الحصول عليها مباشرة ودون تأجيل لخطوات التصنيع والحفظ ، ومن أكثر الأحياء الدقيقة اتلافا للخضر والفاكهة الطازجة أو التى يؤجل تصنيعها هى الفطريات التابعة لأجناس:

Cladosporium, Fusarium, Rhizopus
Ceratostomella Alternaria, Trichoderma
Sclerotinia, Trichothecium, Physalospora
Phytophthora, Diplodia, Aspergillus

Penicillium, Bremia, Botrytis وغيرها من الفطريات.

يعزى العديد من العيوب الى العديد من البكتيريا وخاصة تلك التابعة لأجناس Erwinia, Micrococcus, Pseudomonas والعديد من البكتيريا الأخرى.

وتتعرض منتجات الخضر والفاكهة المحفوظة بالطرق المختلفة أيضا للتلف بواسطة الأحياء الدقيقة. اذ أن الأغذية المحفوظة بالتبريد تهاجمها الكثير من الأحياء الدقيقة المحبة للبرودة Psychrophiles وتسبب عيوبا مختلفة، منها فقد القوام أو القوام المزلق Slime أو تكون طعم وروائح غير مرغوبة أو تغيرات فى اللون ... الخ.

أما الأغذية المجمدة على درجات حرارة منخفضة (صفرْ ف) فنادرا ما تتعرض للتلف بالأحياء الدقيقة (وان كانت قد تتعرض للتلف الانزيمى ان لم يتم اتلاف الانزيمات). أما الأغذية المجمدة على درجات حرارة ٢٠° ف (وهى درجة حرارة أقل من الصفر المئوى) فقد تتعرض للتلف بواسطة الأحياء الدقيقة حيث تنمو بعض الفطريات مثل بعض الفطريات التابعة لأجناس Sporotrichum, Monilia, Penicillium على درجة حرارة ٢٠° ف. كما تنمو بعض البكتيريا مثل تلك التابعة لأجناس Pseudomonas, Achromobacter, Alcaligenes, Micrococcus, Flavobacterium على درجة حرارة ٢٠° ف. وتسبب هذه الأحياء الدقيقة كثيرا من العيوب للأغذية المحفوظة فى الثلاجات.

وتتعرض منتجات الخضر والفاكهة المعلبة أو المجففة أو المخللة للتلف بواسطة الأحياء الدقيقة اذا لم يتم حفظها بأسس وأساليب علمية دقيقة، ولذلك فان القائمين على التصنيع الغذائى يجب أن يكونوا

على دراية تامة بعلوم الأحياء الدقيقة ووسائل التحكم فيها • والتسمم البوتيولينى Botulism من أشهر أنواع التلف التى تحدث فى الأغذية المعلبة منخفضة الحموضة (كالبقوليات ومعظم أنواع الخضر واللحوم والأسماك وغيرها) ويعزى هذا التسمم لعدم كفاية درجة حرارة أو مدة التعقيم التجارى لتلك الأغذية بما يتسبب فى نمو ميكروبات كلوستريديم بوتيولينم Clostridium botulinum (وهو ميكروب عصوى متجرثم لا هوائى تتحمل جراثيمه درجات حرارة مرتفعة) والذى يفرز مواد سامة فى الغذاء تؤدى الى التسمم الغذائى • وهناك أحياء دقيقة أخرى كثيرة تسبب تلف الأغذية المعلبة • وقد يكون التلف مصحوبا بانتفاخ العلب أو عدم انتفاخها • كما تتعرض الأغذية المخللة أيضا للتلف بواسطة الأحياء الدقيقة التى تؤدى الى السطح المزلق أو فقد القوام أو ظهور فقاقيع غازات فى المخللات أو ظهور طعم أو رائحة غير مرغوبة وغير ذلك من العيوب•

٤ـ اللحوم والأسماك والدواجن ومنتجاتها :

تتعرض اللحوم والأسماك والدواجن الطازجة للتلف السريع بواسطة الأحياء الدقيقة بعد الذبح أو الصيد ان لم يتم تبريدها أو حفظها أو استهلاكها • فقد يتغير اللون أو القوام أو تظهر روائح أو طعم غير مرغوب أو ظهور نموات على المنتجات الطازجه او المصنعة بالطرق المختلفة • وتنتج هذه العيوب بواسطة العديد من البكتيريا التابعة لأجناس:

Pseudomonas, Achromobacter, Flavobacterium, Serratia, Chromobacterium, Streptococcus, Leuconostoc, Bacillus Micrococcus, Lactobacillus, Brevibacterium, Pediococcus, Clostridium, Salmonella.

وغيرها ، كما تهاجم الفطريات أيضا اللحوم والأسماك والدواجن ومنتجاتها ، وتسبب كثيرا من العيوب•

ومن أمثلة الفطريات التى تهاجم هذه المنتجات ، بعض الفطريات

التابعة لأجناس:

Mucor, Rhizopus, Thamnidium, Penicillium, Cladosporium, Geotrichum

٥ - البيض ومنتجاتـه :

يتعرض البيض الطازج أو المحفوظ بالتبريد أو التجميد أو التجفيف للتلف بواسطة العديد من الأحياء الدقيقة أن لم تتم معاملته بالطرق العلمية الصحيحة .. ورغم أن البيض معقم من الداخل عند الوضع ، الا أنه قد يتلوث من فضلات الدواجن أو من ماء الغسيل أو الأيدى أو أطباق التعبئة وغيرها ، وينتج عن ذلك عيوب عديدة فى قوام البيض أو طعمة ورائحته ولونه أو غير ذلك. ومن الأحياء الدقيقة التى تسبب تلف البيض ومنتجاته بعض الأنواع التابعة لأجناس البكتيريا .

Pseudomonas, Proteus, Achromobacter, Alcaligenes, Flavobacterium, Bacillus, Micrococcus, Streptococcus

وكذلك بكتيريا وفطريات القولون

٦ - اللبن (الحليب) ومنتجاته :

يحتوى اللبن (الحليب) عند نزوله من الضرع على أعداد كبيرة من الأحياء الدقيقة حتى فى أنظف مزارع الألبان ، وقد يصل عدد البكتيريا فى الملليمتر الواحد الى ٥٠٠٠٠ خلية . لذلك يلزم تبريد اللبن (الحليب) بسرعة بعد عملية الحلب ، والا تعرض للتلف السريع. ولا يقتصر التلف بالأحياء الدقيقة على اللبن (الحليب) الطازج فقط ، بل ان منتجات الألبان على اختلافها تتعرض لعيوب مختلفة . منها ارتفاع الحموضة أو التجبن أو ارتفاع القلوية أو تغير اللون أو التحبل Ropiness أو تكون طعم أو رائحة غير مرغوبة . أو تكون فقاعات غازات أو التزنخ أو التعفن ... الخ . والأحياء الدقيقة التى تهاجم الألبان

وتتلفها عديدة ، كما أن العديد من الأحياء الدقيقة تستخدم في صناعات الألبان المختلفة • ومن أكثر الأحياء الدقيقة استعمالا في منتجات الألبان المختلفة البكتيريا التابعة لأجناس:

Lactobacillus, Streptococcus, Propionibacterium, Leuconostoc.

وكذلك الفطر Penicillium roquoforti (جدول ٢ـ١) •

كما أن هذه الأحياء قد تكون مسئولة عن عيوب معينة في بعض منتجات الألبان ، علاوة على أنواع أخرى كثيرة مثل بكتيريا

Pseudomonas, Achromobacter,
Alcaligenes, Flavobacterium, Serratia, Bacillus
Clostridium, proteus, Micrococcus, Aerobacter, Brevibacterium

وفطريات Oospora (Geotrichum), Penicillium, Monilia
Aspergillus, Mucor, Alternaria, Loddaromyces

جدول ٢ـ١ : الأحياء الدقيقة التي تستخدم في المنتجات المختلفة للألبان

المنتجات	نوع التخمر	الأحياء الدقيقة التي تقوم بالتخمر بصفة عامة
اللبن المتخمر (الروب) Butter milk.	لاكتيكي	Lactobacillus bulgaricus
اليوجرت ـ الزبادي Yogurt	لاكتيكي	L. Bulgaricus, Str. thermophilus
الكيفير Kefir	كحولي ولاكتيلي	Streptococcus lactis L. bulgaricus. وخمائر تخمر سكر اللاكتوز
الأجبان (عامة)	مبدئيا لاكتيلي	S. lactis, S. cremoris وبكتيريا حمض لاكتيك مختلفة تنتمي اساسا الى Lactobacilli

تابع جدول ٢ــ١ : الأحياء الدقيقة التى تستخدم فى المنتجات المختلفة للألبـــان

المنتجـــات	نوع التخمر	الأحياء الدقيقة التى تقوم بالتخمر بصفة عامة .
الجبن السويسرى	بروبيونـــى	*Propionibacterium Spp.*
الجبن الركفور	تحليل دهون وبروتينات	*Penicillium roqueforti*

٧ــ أغذية أخرى متنوعة :

تتعرض الأغذية الأخرى التى لم تذكر ضمن الأقسام الست السابقة مثل الزيوت والدهون والمشروبات الغازية والتوابل والبهارات وغيرهـــا من الأغذية للتلف بواسطة الأحياء الدقيقة . ويظهر هذا التلف فـــى صورة عيوب مختلفة كالتزنخ فى الدهون والزيوت أو تخمر المشروبـــات الغازية المختلفة أو اكسابها طعم أو لون غير مرغوب الى غير ذلك مـــن العيوب . وتختلف الأحياء الدقيقة التى تسبب العيوب المختلفة علـــى حسب نوع المادة الغذائية وظروف التخزين المختلفة .

وتحاشيا للعيوب المختلفة السابق ذكرها فى مختلف الأغذيـــة ، تستخدم كل الطرق الممكنة التى تؤدى الى قتل أو تثبيط نشاط الأحياء الدقيقة كوسائل لحفظ الأغذية المختلفة ، وعلى سبيل المثال تستخـــدم الطرق الآتية لحفظ الأغذية من التلف بواسطة الأحياء الدقيقة لآجـــال مختلفة :

(١) التعقيم التجارى للأغذية المعبأة فى أوعية محكمة القفل ــ صناعة تعليب الأغذية .

(٢) خفض رطوبة الأغذية الى الحد الذى لا يسمح بنمو الأحيـــاء

الدقيقة ـ صناعة التجفيف الشمسى والتجفيف الصناعى للأغذية .

(٣) تجميد الأغذية على درجات حرارة منخفضة بحيث تتحول رطوبة الأغذية الى الحالة الثلجية ، فيتوقف نشاط الأحياء الدقيقة نتيجة عدم توفر الرطوبة السائلة ، ونتيجة انخفاض درجة الحرارة ـ صناعة تجميد الأغذية .

(٤) استعمال تركيزات مرتفعة من السكر كافية لمنع نشاط الأحياء الدقيقة ـ صناعة المربى والجيلى والمرملاد والأغذية السكرية .

(٥) التمليح سواء فى محاليل ملحية مشبعة أو باستخدام الملح الصلب . كما يحدث فى حفظ بعض أنواع الأسماك واللحوم ـ صناعة التمليح .

(٦) معاملة الأغذية بمواد كيميائية بتركيزات مناسبة كافية لتثبيط نمو الأحياء الدقيقة . مثل اضافة أملاح حمض البنزويك أو السوربيك أو الكيميائيات الناتجة أثناء تدخين الأسماك .. أو اضافة المضادات الحيوية وغيرها ـ صناعة حفظ الأغذية بالكيميائيات .

(٧) تشجيع مجموعة معينة من الأحياء (مثل بكتيريا حمض اللاكتيك) للنمو وانتاج مواد كيميائية تساعد فى اطالة مدة بقاء الأغذية دون تلف كما سبق الذكر ـ صناعة التخليل أو تخمر منتجات الألبان .

(٨) تشعيع الأغذية بهدف قتل الأحياء الدقيقة دون التأثير على مكونات الغذاء ـ حفظ الأغذية بالتشعيع .

(٩) بسترة الألبان والعصائر المختلفة بقصد قتل الميكروبات المرضية وخفض الحمولة الميكروبية لاطالة مدة الحفظ .

(١٠) تبريد الأغذية بهدف تثبيط أو خفض نشاط الأحياء الدقيقة وخاصة على الخضروات والفاكهة الطازجة .

وبعض الطرق المذكورة تحفظ الأغذية لآجال طويلة نسبيا كالتعليب والتجفيف والتجميد ، وبعضها قصير الأجل كالبسترة والتبريد . وذلك يتوقف على مدى تأثير المعاملة على الأحياء الدقيقة ونشاطها في الأغذية . ولابد من الاشارة الى أن التخليل للخضروات والتخمر في الألبان يحسن من قيمة الأغذية نتيجة نمو بكتيريا حمض اللاكتيك بما تحتوية من فيتامينات وعوامل نمو .

ثامنا ، دور الأحياء الدقيقة في الصناعات الكيمائية والدوائية

ازدهرت كثير من الصناعات الكيميائية باستخدام الأحياء الدقيقة منذ بداية القرن الأخير (العشرون) . فتم انتاج الكحول الصناعي (كحول الايثانول) بالتقطير من نواتج تخمر المولاس بواسطة الخميرة . كما استخدم الكحول بتركيزات مختلفة لانتاج حمض الخليك Acetic Acid بواسطة بكتيريا حمض الخليك . واستخدمت بكتيريا كلوستريديم Clostridium Spp. لانتاج المذيبات العضوية كالأسيتون والبيوتانول على نطاق تجارى كبير . ويستطيع عدد من البكتيريا التابعة لجنس كلوستريديم انتاج حمض البيوتريك . بينما تستطيع بعض البكتيريا الاستمرار في عمليات التخمر محولة حمض البيوتريك الى ايثانول وأسيتون ، وسميت تلك العملية باسم " تخمر الأسيتون ــ بيوتانول " Acetone-butanol fermentation وتتم بواسطة البكتيريا كلوستريديم أسيتوبيوتلكم Clostridium acetobutylicum وقد ازدهرت هذه العملية ازدهارا كبيرا أبان الحرب العالمية الأولى للاحتياج الكبير للأسيتون في صناعة المفرقعات . وبعد الحرب هبط الطلب على الأسيتون ، ولكن عملية التخمر نفسها استمرت للحصول على البيوتانول الذى وجد استعمالا في التجفيف السريع لصبغة النيتروسليلوز المستخدمة في دهان السيارات والتى تزايد الاقبال عليها حينئذ . كما أن مادة الريبوفلافين (فيتامين ب ٢) الناتجة كناتج ثانوى ساعدت هذه الصناعة على البقاء ــ كما أن انتاج الجليسرول Glycerol صناعيا خلال التخمر الكحولى في وجود أملاح الكبريتيت Sulphite ازدهر أيضا أبان الحرب العالمية

الثانية بهدف صناعة المفرقعات أيضا ٠ الا أن كل هذه المنتجات يمكن صناعتها الآن بنفس السهولة بعمليات كيميائية بحته كنواتج ثانوية في صناعة البترول ٠ وان كانت بعض الصناعات مازالت تستخدم عمليات التخمر فى انتاج بعض هذه المواد الكيميائية البسيطة وقد لجأت بعض الدول الى انتاج الكبريت من كبريتور الأيدروجين الناتج من فضلات المجارى بالاستعانة بالأحياء الدقيقة ٠ وقد اقترح البعض زراعة الكبريت Sulfur farming كصناعة ريفية ممكنة كما فى بعض مناطق الهند وباكستان ، كما انتشر انتاج الميثان أيضا من فضلات المجارى بواسطة الأحياء الدقيقة ٠ والميثان فى الواقع هو الناتج الطبيعي لاحدى المراحل الميكروبية فى المعالجة التقليدية للمجارى ٠ والمصانع الحديثة لتنقية مياه المجارى تعتمد على غاز الميثان الناتج منها لتشغيل آلاتها ٠

ويكمن مستقبل الأحياء الدقيقة فى الصناعات الكيمائية ـ بصفة رئيسية ـ فى تحضير المواد التى يشق على الكيميائيين تحضيرها على نطاق صناعى لسبب أو لآخر ٠ فحمض الستريك Citric acid ـ وهو يستخدم بكثرة فى صناعة المشروبات الغازية والمربات وكثير من الأغذية الأخرى ـ مادة صعبة التحضير كيميائيا ، وأن كان تركيبها بسيطا ٠٠٠ ومن ثم فمازالت تصنع ميكروبيولوجيا على نطاق صناعى ٠ وحمض الفيوماريك Fumaric acid وحمض الايتاكونيك Itaconic acid ـ وهما من المواد المستخدمة فى صناعات البلاستيك والصبغات المختلفة ـ مازال تحضيرهما بالطرق الكيميائية صعبا ٠ ويتم انتاج هذين الحمضين بتخمير السكر بواسطة فطريات مجموعة Rhizopus واسبرجيللس Aspergillus على التوالى ٠

كما أن حمض الجلوكونيك ـ وهو يستخدم فى الطب لتزويد المرضى بالكالسيوم ـ يسهل تحضيره بتنمية بكتيريا أسيتوباكتر سبأوكسيدانس suboxydans Acetobacter على الجلوكوز ٠

كما تحضر الأحماض الأمينية لايسين Lysine وحمض الاسبارتيك

Aspartic Acid والثريونين Threonine وحمض الجلوتاميك Glutamic acid في الصناعة من الأحياء الدقيقة ، فمثلا يحضر الحمض الأمينى لايسين من البكتيريا Bravibacterium glutamicum وكذلك بعض بكتيريا القولون وبعض الخمائر ،كما يستخدم Pseudomonas Flurescens وبعض أفراد الجنس Bacillus لانتاج حمض الأسبارتيك من الفيوماريك وتستخدم Escherichia coli لانتاج الثريونين من السوربيتول أو المانيتول ... وتوجد أحياء دقيقة أخرى لانتاج الأحماض الأمينية الانين Alanine والأمينوبيوتريك Amino butyric acid والداى أمينوبيميليك Diaminopimelic acid والهوموسيرين Homoserine والأيسوليوسين Isoleucine والتربتوفان Tryptophane والغالين Valine والبرولين Proline وغيرها .

وهناك بعض المواد التى سيصعب على الكيميائيين انتاجها بتكلفة اقتصادية منافسة لتكلفة انتاجها بالأحياء الدقيقة وهى المضادات الحيوية Antibiotics واللقاحات Vaccines والأمصال Sera وكلها مواد تستخدم فى معالجة الأمراض أو الوقاية منها ، ولها أهمية طبية كبيرة ، وهى مربحة اقتصاديا . كما أن الأبحاث الحديثة قد أدت الى انتاج مواد جديدة تسمى الانترفيرون Interferon تستخدم فى مكافحة الفيروسات، وان لم يتم انتاجها على نطاق تجارى بعد . كما أن الفيتامينات Vitamins والاستيرويدات Steroids (وبعضها يضاف لدعم كثير من الأغذية أو استعمالاتها الدوائية المختلفة) والانزيمات (ومنها ما هو هام جدا لبعض الصناعات وخاصة الغذائية منها) والدكسترنات Dextrans (وهى سكريات عديدة تشبه النشا وتستخدم فى استخدامات صناعية عديدة) والمركبات النشطة ضوئيا Optically active (كالأحماض الأمينية وغيرها) ومركبات كيميائية أخرى .

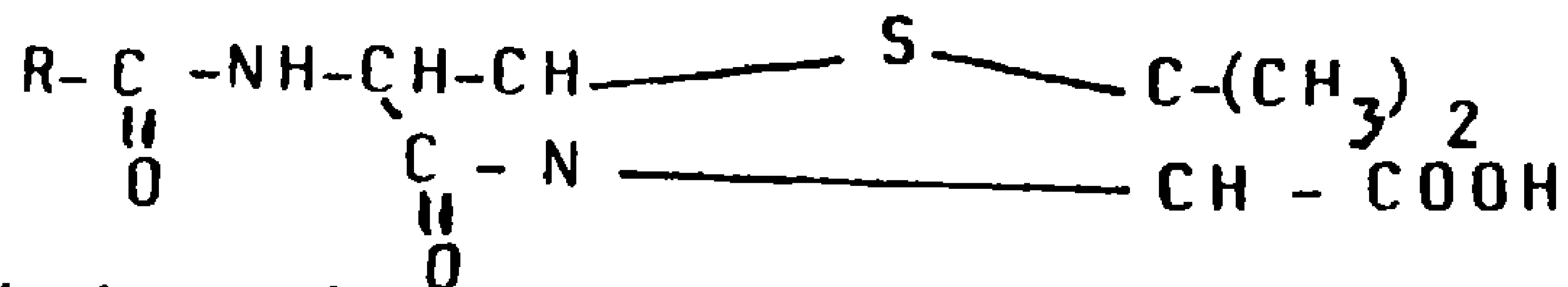
وفيما يلى نعرض باختصار لأهمية الميكروبات فى تحضير هذه المواد :

١ـ المضادات الحيويـة : Antibiotics

اكتشفت الكسندر فلمنج ١٩٢٩م أول مضاد حيوى صدفة عندما لاحظ أن نمو بعض مستعمرات فطرية ملوثة على أطباق تحتوى على مزارع بكتيرية أدت الى منع نمو البكتيريا فى مناطق معينة حول مستعمرات الفطر. وتبين بعد ذلك أن هذا الفطر ينتج مادة كيميائية " مضاد حيوى " يمنع البكتيريا من النمو فى مناطق تواجده. وقد استفاد الانسان منذ ذلك الحين فاستخلص العديد من المضادات الحيوية من الفطريات Fungi والبكتيريا المعروفة باسم الأكتينومايسيتات Actinomycetes مثل البكتيريا التابعة لجنس استربتومايسس Streptomyces. ويمكن تقسيم المضادات الحيوية (شكل ٢ـ٤) كما فى الجدول (٢ـ٢) ـ وتلخيصها فيما يلى :

أـ المضادات الحيوية بيتا ـ لاكتام : β-Lactams

وهى تشمل مجموعة البنسلنيات. والبنسلين هو أول المضادات الحيوية اكتشافا. وقد استخدم بكثرة اثناء الحرب العالمية الثانية. وشاع استعماله جدا بعد الحرب فساعد على التخلص من العديد من الأمراض والسلالات الفطرية المستخدمة الآن تنتج كميات من هذا المضاد الحيوى أكثر بكثير من السلالة التى اكتشفها فلمنج. وينتج البنسلين حاليا من الفطر Penicillium chrysogenum والرمز الكيميائى للبنسلين موضح أدناه :



حيث تدل R على سلسلة جانبية مختلفة ، وباختلاف مجموعة R أمكن الحصول على عائلة من المضادات الحيوية تسمى البنسلنيات Penicillins ومازال البنسلين يستعمل بكثرة فى مكافحة كثير من الأمراض البكتيرية بالرغم من ضيق مدى تأثيره نوعا وبالرغم من ظهور عدد كبير من السلالات البكتيرية المقاومة لفعل البنسلين (كما

سيلى ذكره فيما بعد) • وبالرغم من أن نسبة الحساسية للبنسلين قد ارتفعت • وهناك نوع آخر من البنسلينات ذو مدى واسع نسبيا (أى يهاجم عدد أكبر من البكتيريا) ويسمى السيفالوسبورنيات Cephalo-sporium وهى مضادات حيوية شبيهة بالبنسلين ولها مدى واسع نسبيا فى التأثير وتهاجم البكتيريا التى تقاوم فعل البنسلين العادى وتنتجها فطريات من جنس سيفالوسبوريم .

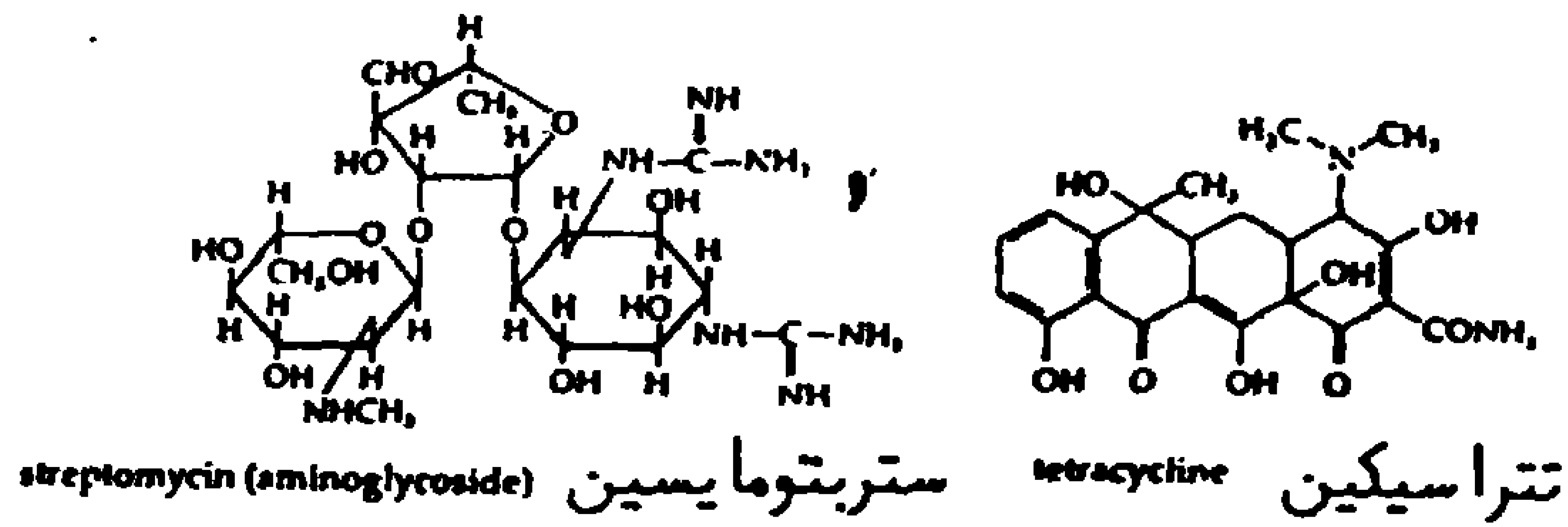
ب ـ المضادات الحيوية عديدة الببتيدات:

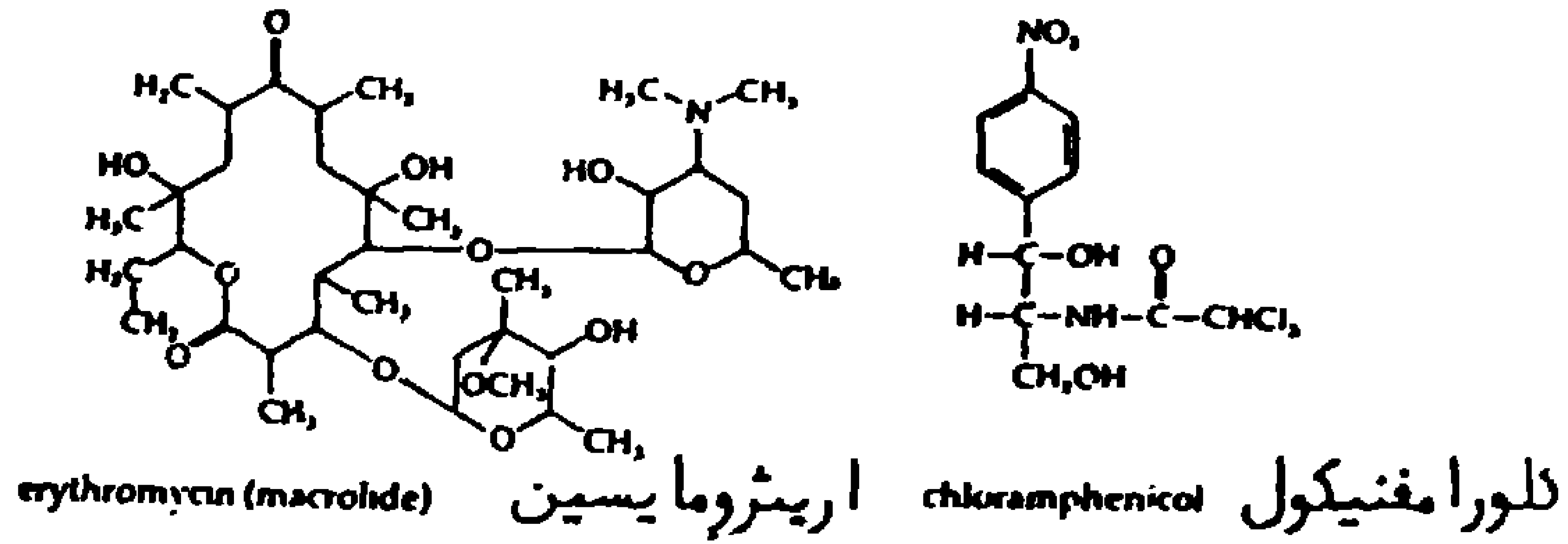
Polypeptide antibiotics

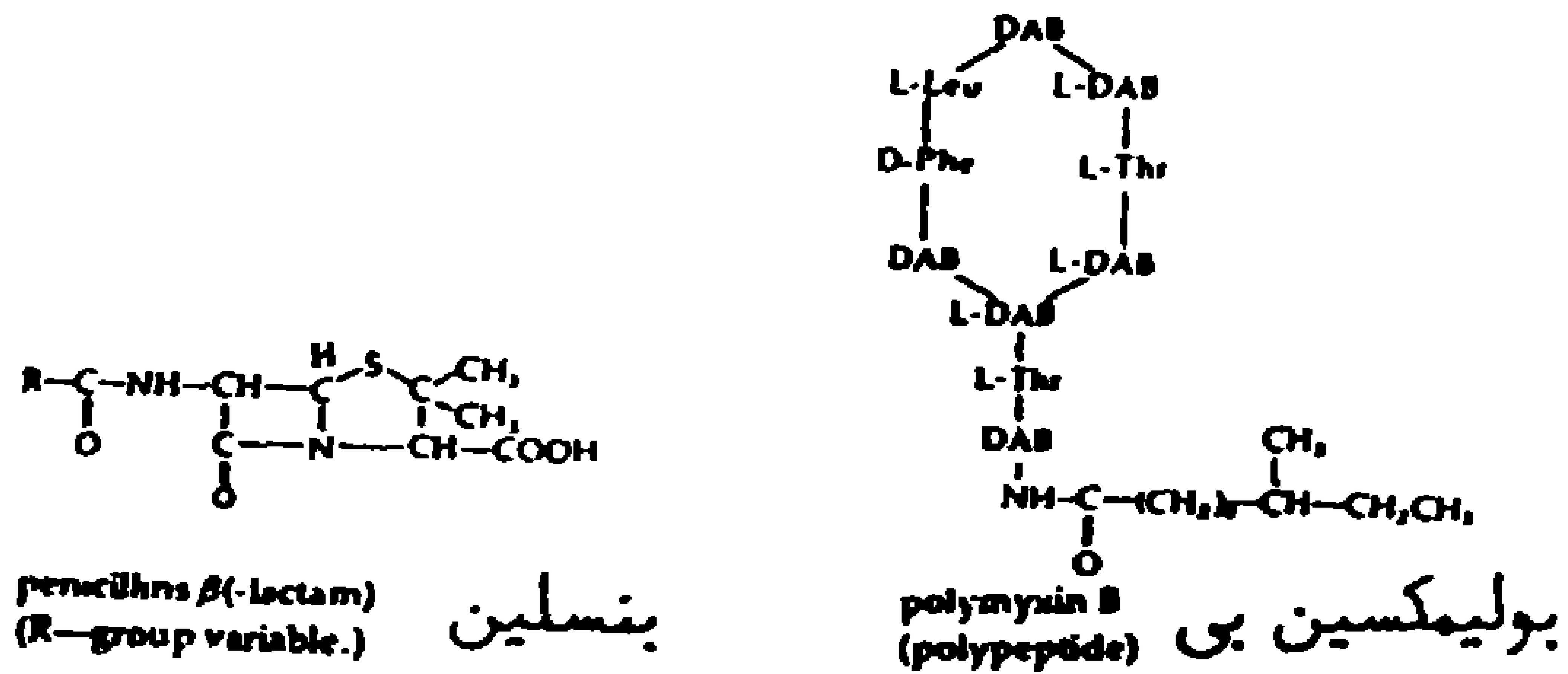
وتنتجها بكتيريا من جنس باسيلس Bacillus وهى عباره عن مركبات بروتينية فعالة ضد بعض أنواع البكتيريا الاخرى • وتستعمل خارجيا فى علاج الجروح ، ولا تستعمل داخليا لسميتها ، ومن أمثلة هذه المضادات الجراماسيدين Gramacidin والبوليمكسين Polymyxin والباسيتراسين Bacitracin .

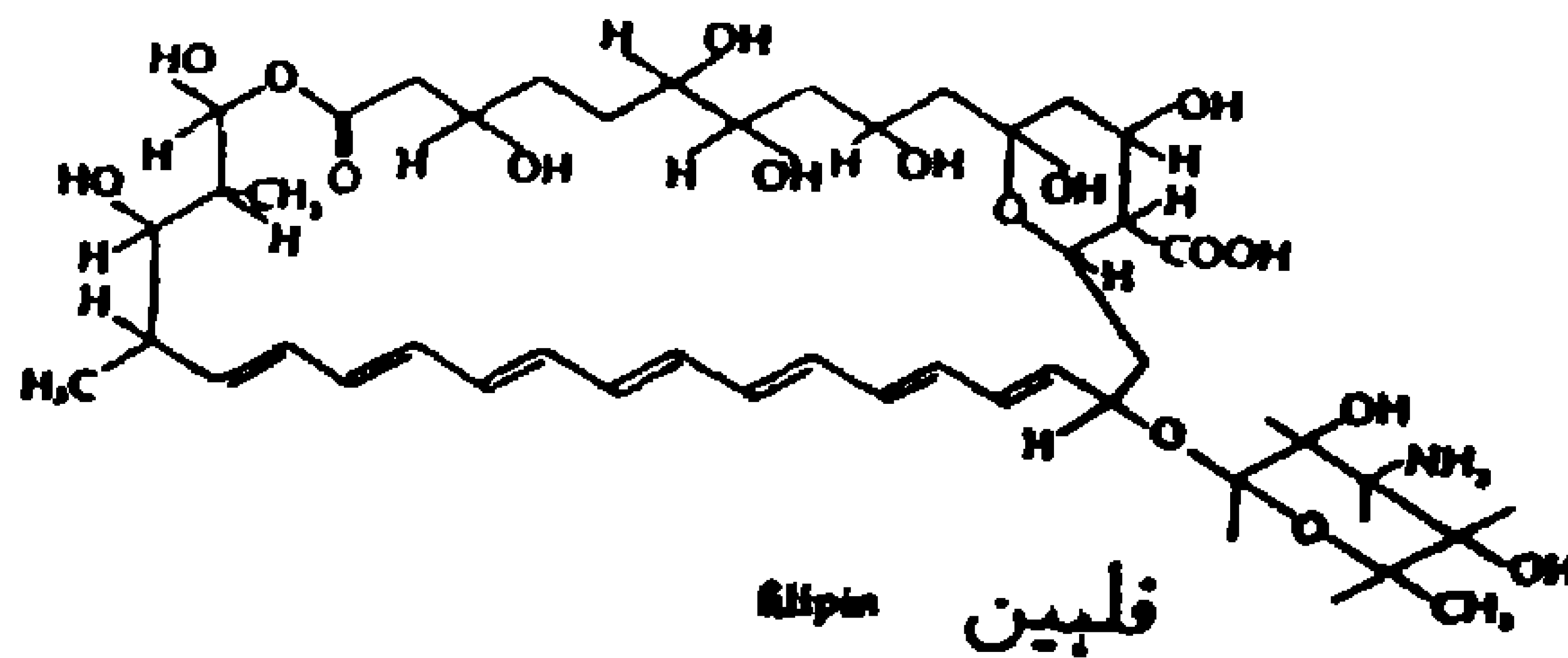
ج ـ التتراسكيلينات Tetracyclines

هى من المضادات الحيوية واسعة المدى Broad spectrums وقد شاع استعمالها فى السيطرة على العدوى البكتيرية الثانوية التى غالبا ما تصاحب الأمراض الغيروسية ، وأكثر أنواعها شيوعا المضاد الحيوى الأوريومايسين Auromycine (كلوروتتراسيكلين Chlorotetracyclin) وينتجه البكتيريا aureofaciens Streptomyces والمضاد الحيوى تيرامايسين Terramycin (أوكس تتراسيكلين Oxytetracyclin) وينتجه البكتيريا rimosus Streptomyces وهما ينتجان بكميات كبيرة نسبيا •









شكل (٢ـ٤) : التركيب الكيميائى لبعض المضادات الحيوية توضح الاختلافات الكبيرة بين أقسامها الكيميائية · المضاد الحيوى بوليمكسين بى عبارة عن سلسلة ببتيدية حلقية من الأحماض الأمينية ليوسين (Leu) وفينايل الانين (Phe) وثريونين (Thr) والفا ـ جاما داى أمينوبيوتيريك (DAB)

جدول (٢-٢) : خواص واستعمالات أقسام المبيدات الحيوية

القسم الكيميائى	الاسم الدارج	المصدر	التأثير العلاجي ضد امراض	فعله (مركز تأثيره)
بيتا -لاكتام β-lactam	البنسلين والسيفالوسبورين	بنسليوم *Pencillium* spp. سيفالوسيبوريم *Caphalosporium* spp.	البكتيريا الموجبه لجرام. البكتيريا الموجبة لصبغة جرام	يوقف بناء مادة الببتيدو-جليكان. الاساسية فى الجدار الخلوى.
عديدات الببتيد Polypeptide	بوليمكسين - بى الباسيتراسين	باسيلس بوليمكسا *Bacillus polymyxa* باسيلس ستيليس *Bacillus subtilis*	البكتيريا السالبة لصبغة جرام البكتيريا الموجبه لصبغة جرام.	يحطم الغشاء الخلوى. يوقف بناء الببتيدو-جليكان.
التتراسيكلينات Tetracyclines	كلورو تتراسيكلين (اوريومايسين) اوكس تتراسيكلين (تيرامايسين)	ستربتومايسس أورفيشانس *Streptomyces aureofaciens.* ستربتومايسس ريموسس *Streptomyces remosus*	البكتيريا الموجبة والسالبة لجرام	يمنع ارتباط -رنا بالريبوسومات فيوقف بناء البروتين على ريبوسومات ٧٠س

تابع جدول (٢-٢) : خواص واستعمالات أقسام المبيدات الحيوية .

القسم الكيميائي	الاسم الدارج	المصدر	التأثير العلاجي ضد أمراض	فعله (مركز تأثيره) .
الجلوكوزيدات الأمينية . Aminoglucos-ides	الاستربتومايسين نيومايسين	ستربتومايسس جريسيوس <u>Streptomyces griseus.</u> ستربتومايسس فرادى <u>Streptomyces fradiae.</u>	البكتيريا السالبة والموجبة لجرام	يمنع نشط الجزء الأصغر (٣٠س) من ريبوسومات البكتيريا وبذلك فانه يوقف بناء البروتين على ريبوسومات (٧٠س) .
الماكروليدز Macrolides	الاريثرومايسين	ستربتومايسس أرثيريوس <u>Streptomyces erythreus.</u>	البكتيريا الموجبة لجرام	يمنع نشاط الجزء الأكبر (٥٠س) من ريبوسومات البكتيريا وبذلك فانه يثبط بناء البروتين على ريبوسومات (٧٠س) .
البيوليينات Polyenes	أمفوتريسين ب نياستاتين كلورامفينكول	ستربتومايسس نودوسس <u>S. nodosus</u> ستربتومايسس نورسياى <u>S. nouresii</u> ستربتومايسس فنزويلا <u>S. venezuelae</u>	الأحياء الدقيقة حقيقية النواة والميكوبلازما . البكتيريا الموجبة والسالبة لجرام والركتسيا .	يرتبط مع الستيرولات التي توجد في الغشاء الخلوى لذوات النواة الحقيقية ويخل بوظائف الغشاء الخلوى لتلك الأحياء الدقيقة . يوقف ترجمة المعلومات على ريبو سومات (٧٠س) .

د ـ الجلوكوزيدات الأمينية Aminoglycosides

الاستربتومايسين هو أهمها وينتجه البكتيريا المعروفة باسم Streptomyces griseus ويهاجم أنواع البكتيريا التى تقاوم البنسلين. . . ومن أمثلة هذه المجموعة أيضا المضاد الحيوى نيومايسين Neomycin وينتجه بكتيريا Streptomyces fradiae وهو عالى السمية ولا يمتص فى الأمعاء ، لذلك فانه لا يحقن ، ولكنه يمكن استعماله فى علاج الأمراض الجلدية والمعوية .

هـ ـ البوليينات Polyenes

وتنتجها بعض بكتيريا الاستربتومايسيتات، وهى مركبات قريبة الشبه بفتامين أ ، وهى فعالة ضد الأحياء الدقيقة حقيقية النواه نظرا لاحتواء غشاءها الخلوى على الستيرولات.

وترتبط هذه المضادات الحيوية بالسيترولات مسببة الاخلال بوظائف الغشاء الخلوى ، ولا تتأثر ذوات النواة البدائية (فيما عدا الميكوبلازما Mycoplasma) بهذه المجموعة من المضادات الحيوية لعدم وجود السيترولات فى غشائها الخلوى (تحتوى الأغشية الخلوية للميكوبلازما على السيترولات) .

و ـ مضادات حيوية أخرى :

يوجد العديد من المضادات الحيوية الأخرى ، وأكثرها غير هام من الناحية الاقتصادية أو من الناحية الطبية لأسباب عديدة ، ولكن يجدر بالذكر أن بعض المضادات الحيوية (مثل الجريزيوفلفين Griseofulvin والذى ينتجه فطر Penicillium Griseofulvum المضاد لمسببات أمراض النبات مثل أمراض الصدأ والبياض الزغبى) قد اقترح استعمالها لمكافحة أمراض النبات ، ولكن ما زال استخدامه غير

اقتصادي · كما أن المضاد الحيوى النيسين Nisin والذى ينتجه بكتيريا استربتوكوكس لاكيتس Streptococcus lactis قد اقترح استخدامه لحفظ الأغذية وقد اقترح استعمال مبيدات أخرى لحفظ الأغذية أو لدعم غذاء الدواجن والحيوانات بدعوى وقايتها من الأمراض وزيادة الثروة الحيوانية ، ولكن استعمال المضادات الحيوية فى حفظ الأغذية أو فى وقاية الدواجن والحيوانات من الأمراض قد أوقف للخوف من تهيئة الظروف لانتخاب السلالات المقاومة للمضادات من الأحياء الدقيقة المختلفة بما يشكل خطورة حقيقية لحدوث أوبئة السلالات المقاومة للمضادات الحيوية ·

٢ ـ اللقاح Vaccine والمصل Serum

اللقاحات هى الأحياء الدقيقة الممرضه بعد قتلها أو اضعافها الى درجة لا يمكنها معها احداث المرض · وعند حقن هذه الفاكسينات فى الجسم فانها لا تحدث المرضه ولكنها تنشط الجسم لانتاج الأجسام المضادة Antibodies لتلك الأحياء الدقيقة فيصبح الجسم منيعا للاصابة بالأحياء الدقيقة الممرضة الضارية · وقد انتشر استعمال الفاكسينات انتشارا واسعا فى جميع أنحاء العالم للوقاية من الاصابة بالأمراض المختلفة · وبفضل الفاكسينات انخفضت نسبة الوفيات فى الأطفال بسبب الأمراض المختلفة انخفاضا كبيرا · وتستخدم الأحياء الدقيقة بكثرة لانتاج الفاكسينات·

أما المصل Serum فهو البلازما المتحصل عليها من الدم بعد فصل خلايا الدم منه ويمكن الحصول على المصل المضاد لمرض معين من بعض الحيوانات بعد حقنها بسلالات ضعيفة أو ميتة من الميكروبات المسببة لذلك المرض· وبذلك يتكون فى الدم الأجسام المضادة لهذا المرض والبلازما المتحصل عليها من هذا الدم بعد فصل خلايا الدم يمكن استخدامها لمكافحة الميكروبات المرضية فى الحيوانات المصابة بنفس المرض·

٣- الانترفيرون Interferon

الانترفيرون عبارة عن مواد مضادة للفيروسات تنتجها بعض الخلايا الحيوانية بعد حقنها ببعض الفيروسات النشطة أو المثبطة . ومازال استخدام الانترفيرون فى مكافحة الأمراض الفيروسية فى مهده ، وسنناقش الانترفيرون فيما بعد باسهاب عند مناقشة الفيروسات.

٤- الفيتامينات Vitamins والاستيرويدات Steroids

الفيتامينات هى عوامل نمو Growth factors يحتاجها الانسان والحيوان لكى ينمو نموا طبيعيا . واذا لم يتحصل الانسان على الفيتامينات فانه يصاب بأمراض معينة ... وعلى سبيل المثال فان نقص فيتامين ج Vitamin C (حمض الأسكوربيك) فى التغذية يؤدى الى حدوث مرض الاسقربوط . وهذا الفيتامين متوفر بكثرة فى الفاكهة كالموالح كما يوجد فى الخضروات كالطماطم . ولكن كثيرا ما يتم انتاج هذا الفيتامين من السوربيتول وذلك لاستعماله كدواء أو لاضافته كمادة مدعمة للقيمة الغذائية لبعض الأغذية وخطوات انتاج فيتامين ج من السوربيتول تتم خلال سلسلة من التحولات الكيميائية وتتعرض المادة فى احدى هذه الخطوات لبكتيريا تسمى أسيتوباكترسبأ وكسيدنز Acetobactes suboxydans .

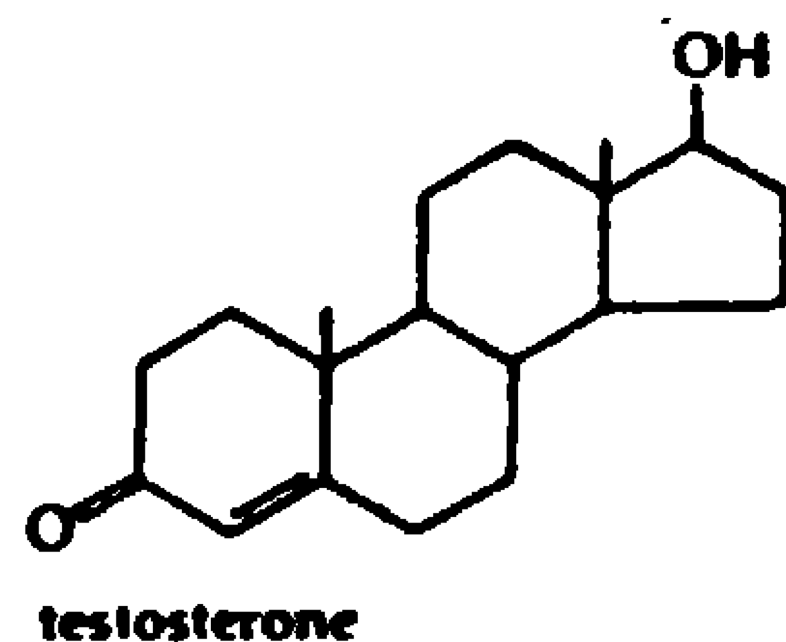
أما فيتامين ب ٢ Vitamin B_2 والمسمى ريبوفلافين Riboflavin فيتم انتاجه ميكروبيا باستخدام فطر يسمى ايريموثيكم اشبياى Eremothi- cum ashbyii أو فطر أشبياجوسيبياى Ashbya gossypii أما فيتامين ب ١٢ Vitamin B_{12} والمسمى كوبالامين Cobalamin وهو يضاف الى علف الحيوانات كما أن له استعمالات طبية ، ويتم انتاجه بواسطة البكتيريا استرتبومايسس أوليفيسيوس Streptomyces olivaceus وبكتيريا باسيلس ميجاتيريم Bacillus megaterium كما ثبت أن بكتيريا التخمر لفضلات المحارى يمكنها انتاج كميات كبيرة من هذا الفيتامين .

والكاروتين وهو مولد فيتامين أ Vitamin A شائع الانتشار فى الطبيعة ، ولكن يلزم أحيانا صناعته من مصادر ميكروبية ، وتستطيع بعض أنواع الخمائر والبكتيريا الملونة انتاج الكاروتين . وينتج الكاروتين صناعيا فى البرازيل بمساعدة فطر بلاكيسلياترايسبورا Blakeslea trispora .

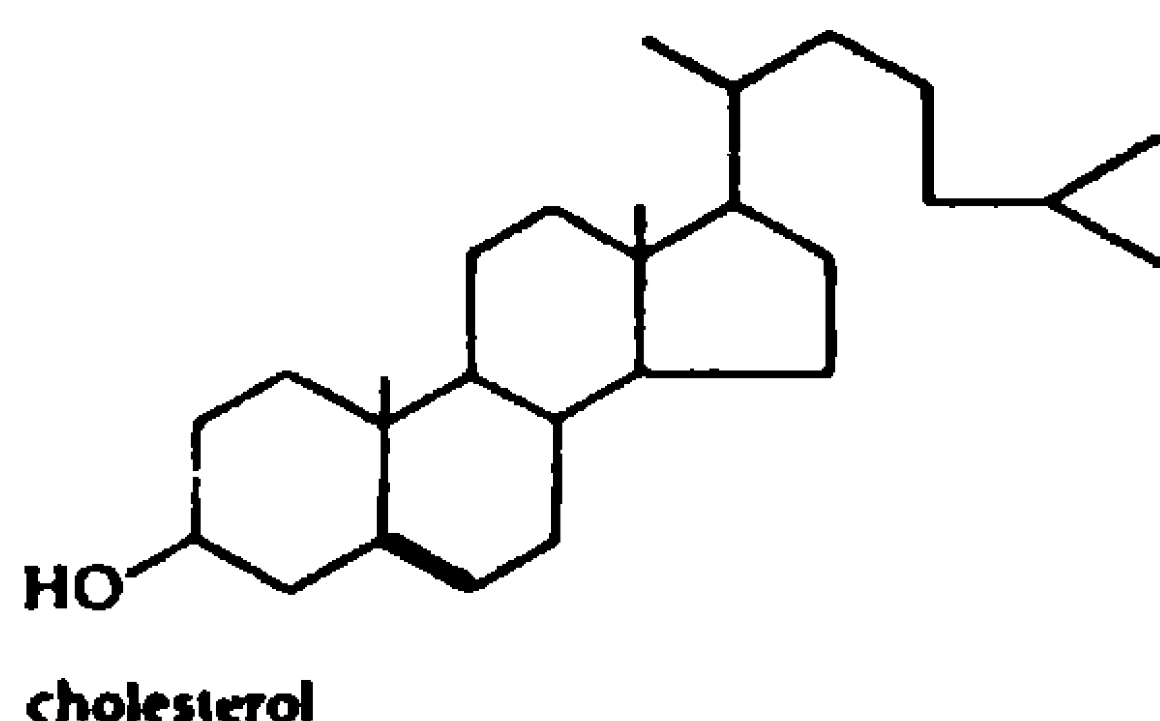
كما يمكن انتاج مادة الايرجوسيترول ـ وهى مولد لفيتامين د Vitamin D من الخميرة ، وتستخدم الخميرة المضغوطة فى صورة أقراص كدواء لعلاج النقص فى فيتامين ب Vitamin B .

كما تستخدم الأحياء الدقيقة أيضا لانتاج الاستيرويدات وهى عبارة عن هرمونات أو مواد شبيهة بالهرمونات (شكل ٢ـ٥) لها أهمية فى مجال الصيدلة والطب .. ومن أمثلة الأولى قلويدات الأرجوت Ergotalkaloids والتى لها تأثيرات مشابهة لتأثيرات بعض الهرمونات الجنسية وينتجها فى الطبيعة فطر يسمى كلافيسبس Claviceps . ويهاجم هذا الفطر القمح . واذا لوث هذا الفطر الخبز الذى يتناوله الانسان ، فان آكلوا الخبز يصابون بالهلوسة Hallucinations وعدد من الاضطرابات الأخرى .

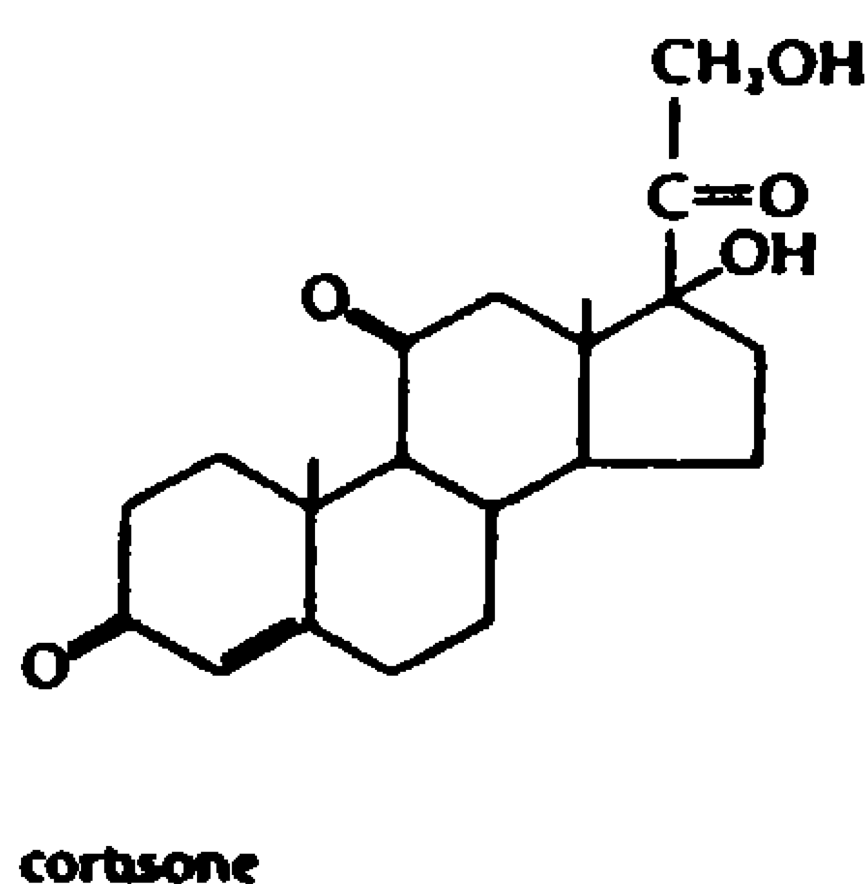
كما يمكن أيضا استعمال فطريات رايزوبس Rhizopus فى تغيير التركيب الكيميائى للاستيرويدات النباتية وتحويلها الى هرمونات فعالة دوائيا أو تغيير التركيب الكيميائى لهرمون البروجسترون Progesterone السهل التحضير نسبيا وتحويله الى مادة الكورتيزون الباهظة الثمن والتى تستخدم بكثرة لعلاج الآلام الروماتيزمية وآلام المفاصل وعلاج أمراض الحيض عند النساء وغيرها من الأغراض .. لذلك فان انتاج الاستيرويدات بواسطة الأحياء الدقيقة يمثل مجالا هاما آخر للاستفادة من الأحياء الدقيقة .



تستسرون



كوليسترول



كورتيزون

شكل (٢ـ٥) التركيب الكيميائي للكوليسترول وهو أسيترويد ذو ٢٧ ذرة كربون واثنين من استيرويدات الثدييات وهي هرمونات هامة ، ويعتبر الكوليسترول حجر الأساس في تركيبها وهما التستسرون ، ويحتوى على ١٩ ذرة كربون والكورتيزون ويحتوى على ٢١ ذرة كربون ...

٥ـ الانزيمات Enzymes

الانزيمات عبارة عن عوامل مساعدة حيوية للتفاعلات الكيميائية الحيوية ، ويمكن استخلاصها من جميع أنواع الأنسجة الحية ، وكثيرا ما تكون الأحياء الدقيقة أنسب المصادر لبعض الانزيمات . والجدول (٢ـ٣) يبين بعض الانزيمات التجارية ومصادرها واستعمالاتها والتفاعلات التي تساعدها . وقد تستخدم هذه الانزيمات بعد تنقيتها كليا أو جزئيا .

ولا يقتصر استعمال الأحياء الدقيقة على الانزيمات المذكورة ، بل ان هناك العديد من الانزيمات التي تستخلص من الأحياء الدقيقة في مصانع الكيميائيات بهدف استخدامها في الأغراض الطبية وفي الأبحاث والدراسات المختلفة . وقائمة الانزيمات التي تستخلص من الأحياء الدقيقة لغرض الأبحاث والدراسات كبيرة ومربحة اقتصاديا .

٦ـ الدكسترنات: Dextrans

الدكسترنات عبارة عن سكريدات عديدة وتشبه النشا ، وهي ذات قيمة كبيرة لامكان استخدامها في أعمدة الفصل الكروماتوجرافي للبروتينات أو كمادة جيلاتينية لبعض البويات ويتم تحضيرها صناعيا بالسماح لبكتيريا ليكونوستوك ميزينتيرويدز Leuconostoc mesenteroides بالنمو على مزارع تحتوي على السكروز . وفي بعض الأحيان يتم قتل البكتيريا بالحرارة وبعد ذلك استخلاص الدكسترنات أو يستخلص الانزيم من البكتيريا قبل معاملتها بالحرارة . ثم يستخدم الانزيم في انتاج الدكسترنات تحت ظروف مضبوطة .

جدول ٢ ـ٣ : قائمة لبعض الانزيمات الميكروبية التى تنتج صناعيا

اسم الانزيم	المصدر الميكروبى	الاستعمالات	التفاعلات التى يساعد ها
الد ياستير Diastase	اسبرجلس أوريزا Aspergillus oryzae	صناعة عسل الجلوكوز من النشا - مادة مساعدة للهضم -	تحليل النشا
الأميلير المقاوم للحموضة	اسبرجلس نيجر A. niger	مادة مساعدة فى الهضم	تحليل النشا
أنفرتير Invertase	خميرة الخباز Saccharomyces cerevie-seae	صناعة الحلويات . لمنع تبلور السكر	تحليل السكروز
بكتينير Pectinase	سكلورتينا ليبرتينا Sclerotina liber-tina	ترويق عصائر الفاكهة	تحليل البكتين
برونيير Protease	اسبرجلس نيجر A. niger	مادة مساعدة فى الهضم	تحليل البروتينات
برونيز Protease	باسيلس ستيلس Bacillus subtilis	ازالة الجيلاتين من الأفلام الفوتوغرافية لاستعادة الفضـــــة .	تحليل البروتينات
ستربتوكاينير Streptokinase	استربتوكوكاس Streptococcus spp	يساعد التئام الجروح والحروق	تحليل البروتينات
كولا جينير Collagenase	كلوستريديم هستوليتكام Clostridium histolyticum	يساعد التئام الجروح والحروق	تحليل البروتينات (الكولاجين)
ليبير Lipase	رايزوبس Rizopus sp.	مادة مساعدة فى الهضم	تحليل الدهون
سليولير Cellulase	ترايكودرما كونيجى Trichoderma konigi	مادة مساعدة فى الهضم	تحليل السليلوز

٧ ـ المركبات النشطة ضوئيا : Optically active compounds

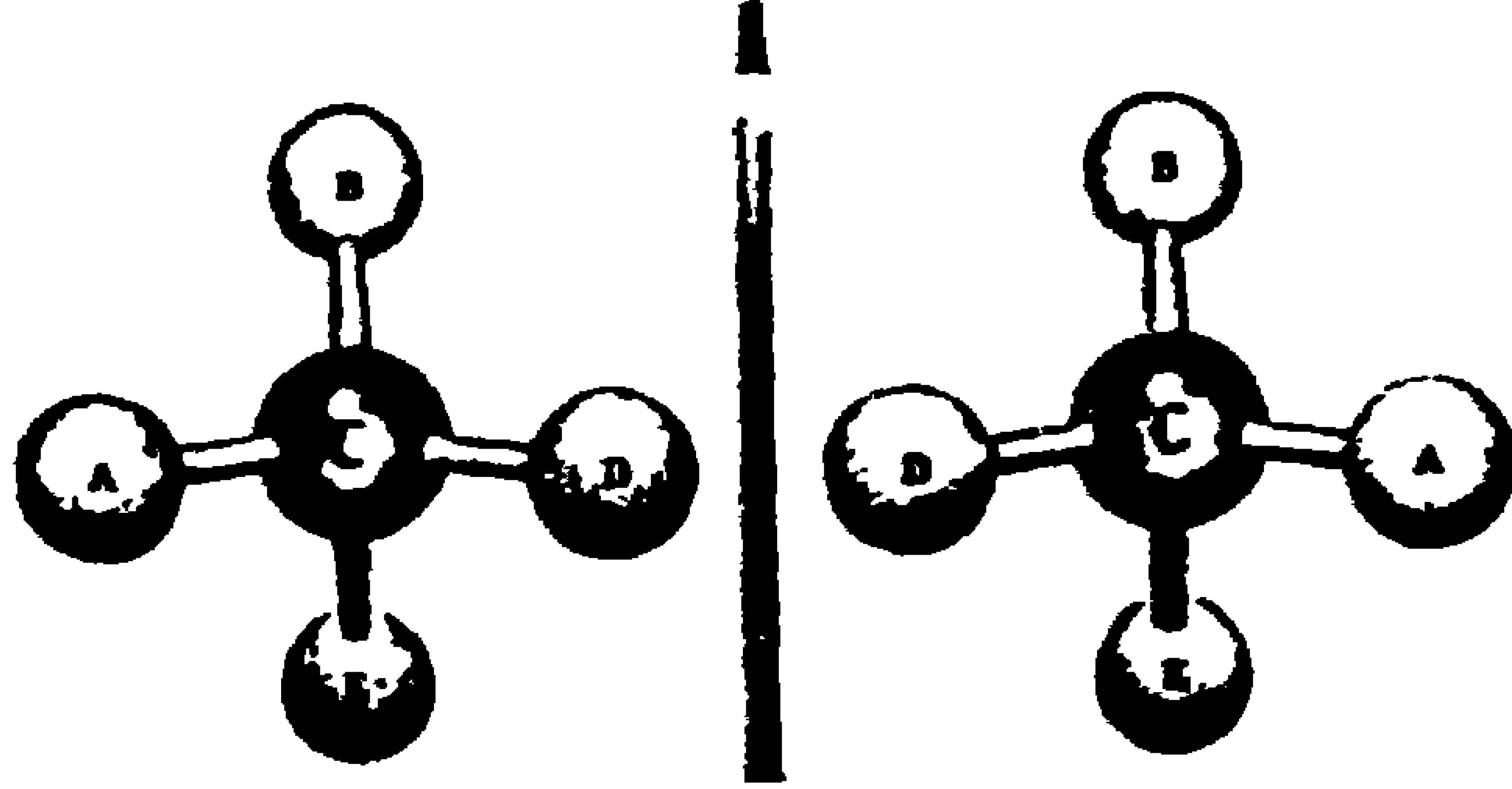
وهى مركبات تؤدى الى انحراف الضوء المستقطب Polarized light وهو أمر يمكن الكشف عنه بأجهزة ضوئية خاصة . وبعض المواد ذات التركيب الكيميائى والجزيئى المتماثل تختلف فى قدرتها على استقطاب الضوء يمينا ويسارا ، وذلك يتوقف على التركيب البنائى للجزيئ، وأهمية ذلك ترجع الى دقة بناء التركيب الجزيئى فى هذه المواد ....

ولوصف أبسط الحالات الممكنة نتصور مركب كربونى تتصل فيه ذرة الكربون بأربع مجموعات مختلفة كما فى الشكل (٢ ـ ٦) حيث ترمز C لذرة كربون تحمل أربع مجموعات مختلفة وهذا المركب وصورته فى المرآة يختلفان فى استقطاب الضوء ، ولكن المركبان متشابهان فى تركيبهما الجزيئى وجميع الخواص الأخرى . وعند تحضير هذا المركب بالطرق الكيميائية فانه يتم الحصول على مخلوط من المركبين بنسب متساوية . ولكن الأنظمة البيولوجية تستطيع أن تصنع أو تستخدم أحد المركبين دون آخر .. ولذلك تستخدم الأحياء الدقيقة فى تحضير المركبات النشطة ضوئيا بطريقتين :

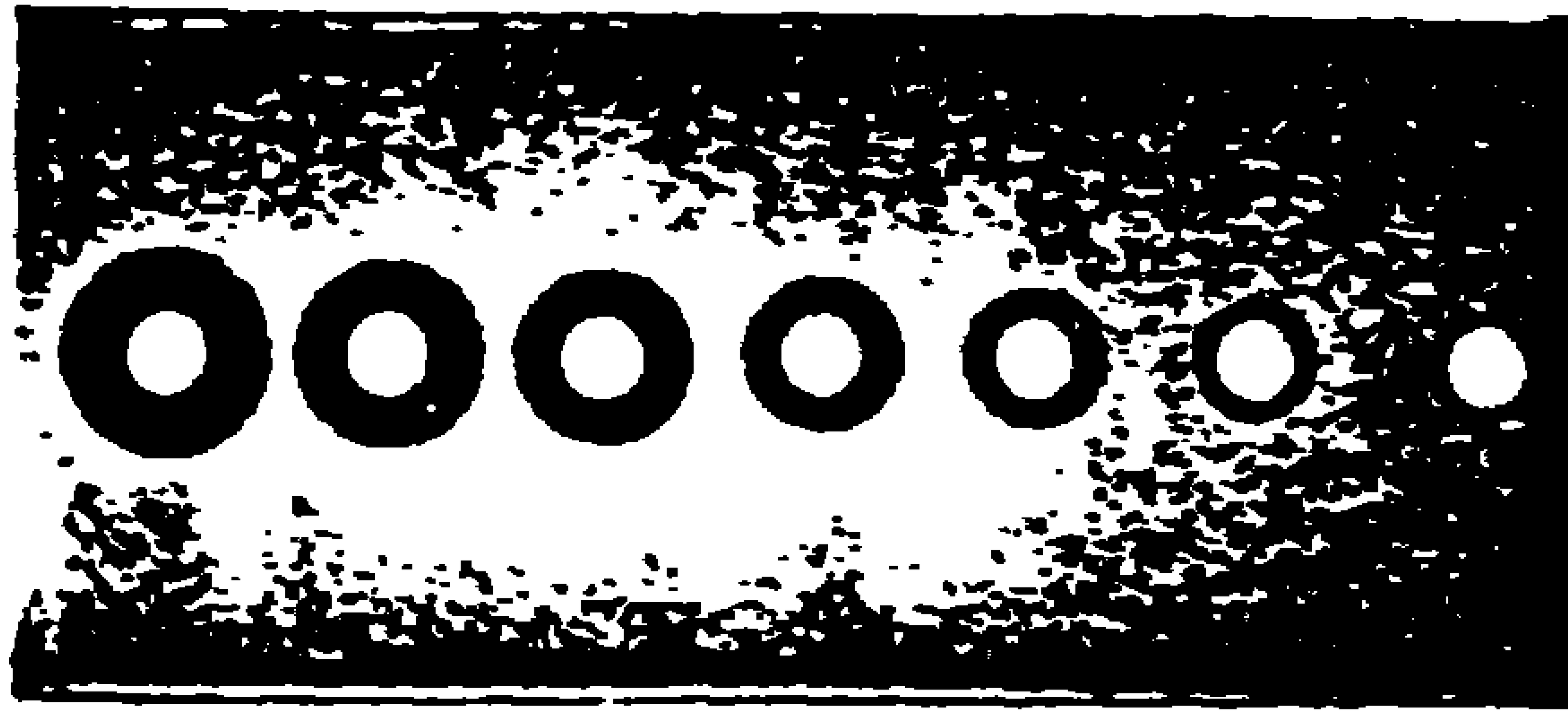
أ ـ تغذى الأحياء الدقيقة التى تستطيع استخدام الجزئيات التى تستقطب الضوء جهة الشمال على خليط من المركبين وبعد النمو يمكن الحصول على الجزئيات التى تستقطب الضوء جهة اليمين .

ب ـ يستخدم الأحياء الدقيقة التى تنتج الجزئيات التى تستقطب الضوء جهة الشمال .

والمركبات النشطة ضوئيا باهظة الثمن جدا وتستعمل فى الصيدلة للحصول على مركبات معينة كما تستخدم فى البحوث والدراسات بكثرة . وحتى الآن تعتبر الوسائل البيولوجية هى أنجح الطرق من الناحية الاقتصادية فى الحصول على هذه المركبات.



شكل ٢ ـ ٦ : تركيب كربونى ذو أربع مجموعات مختلفة وصورته فى المرآة .



شكل ٢ ـ ٧ : التقدير الحيوى لتركيز المضاد الحيوى بنسلين . شريحة من الآجار لقحت ببكتيريا حساسة . ثم وضعت تركيزات مختلفة من البنسلين على أقراص من ورق الترشيح . ١٠٠ وحدات بنسلين وضعت على القرص الى أقصى اليمين . ١٠,٠٠٠ وحدة بنسلين على القرص الى أقصى الشمال . بعد التحضين تتكون هالات خالية من النمو حول الاقراص يتناسب قطرها مع تركيز البنسلين على تلك الاقراص .

٨ــ مركبات كيميائية أخرى :

تستخدم كثير من الأحياء الدقيقة لانتاج مركبات كيميائية مختلفة كالأوكسينات مثل الجبريللينيات Gibberellins وهى مواد هامة فى الزراعة ، وفعلها على النبات يشبه فعل الهرمونات فى الحيوان ، اذ تزيد من سرعة نمو وانقسام الخلايا . واذا لم تستخدم هذه المواد بالطرق الصحيحة فقد تؤدى الى موت البادرات سريعا ، ولذلك تستخدم الأوكسينات فى زيادة النمو الخضرى وتقصير فترة كمون البطاطس والاسراع فى عملية الانبات Malting لحبوب الشعير عند صناعة الجعة (البيرة) ، كما تستخدم الخميرة لانتاج مستخلص الخميرة Yeast extracts والتى تستعمل بكثرة لتنمية أحياء دقيقة مختلفة فى المعامل والمختبرات. كما تستخدم أحياء دقيقة كثيرة بهدف الحصول على الأحماض النووية المختلفة للأغراض المختلفة وأهمها الأبحاث والدراسات المختلفة .

كما استخدمت الأحياء الدقيقة فى انتاج ملح بيتر Saltpeter وهو نترات البوتاسيوم (KNO_3) ابان حروب نابليون فى فرنسا وذلك عندما حاصرتها الجيوش البريطانية فكونت حدائق النترات Nitrate gardens بخلط فضلات الحيوانات مع التربة وفردها على الأرض وتقليبها من وقت لآخر حتى يتم تحليل المواد العضوية وانتاج النترات التى كانت تستخلص وتستخدم فى صناعة المتفجرات. كما أن انتاج الجليسرين بالتخمر الكحولى للسكريات فى وجود أملاح السلفيت أو فى وسط قلوى استخدم أيضا لتكوين النيتروجليسرين المستخدم فى المتفجرات فى الحروب.

٩ــ تقدير تركيز المواد الكيميائية بالطرق الحيوية : Bioassays

تستخدم الأحياء الدقيقة بكثرة فى تقدير تركيز بعض المركبات فى مخلوط كيميائى معقد . وهذا التقدير قد يكون كميا فى حالة تقدير عوامل النمو المختلفة كالأحماض الأمينية والفيتامينات وغيرها أو فى حالة تقدير

مثبطات النمو مثل المضادات الحيوية وغيرها ٠

والأساس فى طرق التقدير الحيوية لعوامل النمو هو تحضير مستنبت غذائى مناسب يحتوى على جميع العناصر الغذائية اللازمة لنمو كائن ما فيما عدا عنصر واحد فقط ٠ ثم اضافة هذا العنصر بكميات صغيرة مختلفة كعامل محدد للنمو وحقن هذا الكائن على هذه التركيزات المختلفة وقياس النمو فى التركيزات المختلفة ٠ ويعمل رسم بيانى بالعلاقة بين تركيز العنصر المحدد للنمو وكمية النمو الناتجة ٠ وعند الرغبة فى معرفة تركيز هذا العامل فى مخلوط مجهول منها فانه يتم قياس النمو ٠ وبالنظر للرسم البيانى يمكن معرفة تركيزه فى المخلوط المجهول ٠ وكذلك الحال بالنسبة للعوامل المثبطة للنمو كالمضادات الحيوية ٠

فتشبع أقراص من ورق ترشيح مناسب بتركيزات مختلفة من المضاد الحيوى وتوضع على سطح مستنبت مناسب محقون بكائن حى دقيق مناسب وقياس قطر الدوائر التى لا يحدث بها نمو حول هذه الأقراص وترسم علاقة بيانية تستخدم لمعرفة التركيزات المجهولة من المضاد الحيوى المذكور فيما بعد (شكل ٢ ـ ٧) ٠

تاسعًا : دور الأحياء الدقيقة فى انتاج البروتينات وحيدة الخلية SCP وانتاج البادئات Starters

من الأسباب التى جعلت العلماء يتجهون الى الأحياء الدقيقة كغذاء للحيوانات هو سرعة نمو الأحياء الدقيقة وارتفاع نسبة البروتين فيها وامكان استخدام مواد خام رخيصة لتحويلها الى بروتينات ٠ وقد أدى نمو علم تغذية الحيوان Animal Nutrition الى قيام صناعة جديدة تعتمد على زراعة الخميرة لدعم علف الماشية والدواجن ٠ ولما كان الهدف الحصول على مادة خلوية فان الخميرة تنمو تحت ظروف تهوية شديدة لتحويل أقصى حد من المواد الخام الى مواد خلوية

وللحصول على أعلى ناتج خلوى. وزيادة فى الاحتياط فان الخمائـــر التى تستخدم فى هذه الصناعة هى من الخمائر الهوائية اجباريـــا Strictly aerobic Yeasts من جنس Candida (وذلــك لأن الخمائر الأخرى التى تخمر السكريات Fermentative مثل خميـرة الخباز Saccharomyces cervisiae تحول جزء من المــواد الكربوهيدراتيه المستخدمة فى تنميتها الى كحول حتى تحت ظـروف التهوية الجيدة جدا.

ويستخدم لانتاج البروتينات وحيدة الخلية إما المولاس المتبقى من صناعة السكر أو فضلات صناعة التعليب والتجميد للأغذية المختلفة. كما يستخدم أيضا فضلات صناعة الورق أو بعض مكونات البتــرول وأى مصدر آخر رخيص الثمن وان كانت الخميرة الناتجة من المواد البترولية يكون لها طعم ورائحة البترول الكريهة، ولكن ازالة هذا الطعم ممكنة. ويمكن أيضا الحصول على البروتين من الغاز الطبيعى (الميثان) - بواسطة البكتيريا المؤكسدة للميثان والتى يمكن أن تكون نافعة كعلف حيوانى أو كسماد أو حتى كاضافات لغذاء الانسان. كما يمكــن استخدام هذه الخمائر والبكتيريا كغذاء فى المزارع الضخمة للبروتوزوا والتى يمكن بالتالى تقديمها كغذاء للأسماك، وبذلك نزيد الغلــة من طعام بروتينى طبيعى سائغ للانسان وهو الأسماك.

وأحيانا تلقى أفكار انتاج البروتينات وحيدة الخلية بواسطــة الخميرة أو البكتيريا معارضة على أساس أنها اجراءات قصيرة الأجل باعتبار أنها تستخدم اما مواد نباتية مثل المولاس، أو الفضلات المختلفـة والتى يمكن الاستفادة منها فى أغراض أخرى على أى حال، وأما مـواد حفرية مثل البترول أو غاز الميثان، وهذه الأخيرة كميتها محدودة على كوكبنا ولن تستمر الا لبضعة أجيال أخرى، وينبغى علينا عدم الاسراف فى استهلاكها أكثر مما هو حادث فعلا الآن...

والمعارضين لفكرة انتاج البروتين وحيدة الخلية من الخميــرة والبكتيريا ينادون باستنبات الطحالب على نطاق واسع، فهى أدعى لسد

حاجات سكان الأرض على المدى الطويل . اذ أنها تستمد طاقاتها من ضوء الشمس وتستمد الكربون من ثانى أكسيد الكربون . وبذلك فهى مصدر متجدد للغذاء ، لذلك فقد درست باستفاضة فى معهد كارينجى Carnegie بواشنطن ومعهد توكاجاوا Tokagawa فى اليابان فى الخمسينات . ومن أمثلة الطحالب المستخدمة لهذا الغرض طحلب كلوريللا Chlorella وطحلب سيند يزموس cenedesmus وهى تنتج غلات ضخمة فى كل هكتار اذا أحسن القيام عليها . ثم أن قيمتها تماثل قيمة الخميرة من نواح عديدة ، أى انها أغذية مساعدة ، فالمعتقد حاليا أن الانسان لن يقدمها أو يقبلها كوجبات غذائية كاملة بمفردها .

ومن المشاكل التى تجابه استخدام الأحياء الدقيقة كغذاء هو احتياجها لتكنولوجيا متقدمة لا تتوفر لدى الدول الفقيرة ، وهى الدول الأكثر احتياجا لمثل هذه المصادر الغذائية .. فمحاصيل الحبوب واللحوم والخضروات أغذية مركزة بدرجة معقولة عند انتاجها . أما مزارع الأحياء الدقيقة كالخميرة أو البكتيريا أو الطحالب فعادة تحتوى على أقل من ١٪ من المحصول والباقى يكون فى صورة ماء يلزم التخلص منه اما بالترشيح أو الطرد المركزى أو الترسيب ، وهى عمليات تتطلب استهلاك طاقة مكلفة وان كانت تكلفة انتاج بروتين الكلوريللا تقل عن ثلث تكلفة انتاج بروتين اللبن .

هذا .. ولا تبدو الأحياء الدقيقة اليوم عند رجال الأعمال أغذية تبشر بالربح ، ولكن لابد من اطعام الأعداد المتزايدة من الناس يوما بعد يوم والا لجأت الدول للحروب ، وقد أصبحت الأحياء الدقيقة مقررة فى أغذية الحيوانات فعلا . ولعلها مسألة وقت قبل أن تصبح الأحياء الدقيقة أغذية مقبولة من عامة الناس . وفى الوقت الحالي يستهلك اليابانيون كميات كبيرة من الطحالب فى غذائهم فعلا . كما يستهلك الغرب كميات كبيرة من فطر عيش الغراب Mushroom فى غذائهم والمعتقد أن الفقع الشائع الانتشار فى الجزيرة العربية بعد مواسم الأمطار والذى يقبل عليه سكان الجزيرة العربية اقبالا كبيرا ما هو الا أحد أنواع الميكوريزا Mycorrhiza (وهى تعاون بين فطر وجذر

أحد النباتات ينتج عنه منفعة للطرفين) ٠

أما بالنسبة لانتاج البادئات فهي أيضا صناعة هامة تخدم صناعة منتجات الألبان المختلفة وصناعة المشروبات الكحولية الغازية وغير الغازية ٠ وتخدم صناعة الخبز والمخللات وصناعة المواد الكيميائية المختلفة كصناعة حمض الستريك وحمض الخليك والبيوتانول والميثان والمركبات المستقطبة للضوء وانتاج الفيتامينات والانزيمات والاستيرويدات والبروتينات وحيدة الخلية وغيرها ٠

والهدف من انتاج البادئات هو الحصول على سلالات نشطة قوية يعتمد عليها في الانتاج بحيث تسود ظروف المزرعه دون السماح للملوثات - ان وجدت - بالنمو ٠ كما تكون السلالات المستخدمة في هذه البادئات تعمل على اكساب الناتج النهائي صفات مميزة مرغوبة موحدة من دفعة لأخرى ٠ وقد يحتوى البادئ على مزرعة نقية أو مزرعة مختلطة من عدة أحياء دقيقة ٠

ومن أكثر البادئات المستخدمة بادئات بكتيريا حمض اللاكتيك المختلفة وبادئات بكتيريا حمض الخليك وبادئات بكتيريا حمض البربيونيك ٠ وكذلك بادئات خميرة الخباز وبادئات الخمائر المستخدمة في صناعة المشروبات الكحولية وبادئات فطريات انتاج حمض الستريك أو الجبن الركفور وغيرها من المركبات٠

كما يتم انتاج بكتيريا الرايزوبيم Rhizobium أيضا بكميات كبيرة لحقنها في التربة لتساعد على تثبيت النيتروجين الجوى بالمعيشة التكافلية مع البقوليات٠

عاشراً : دور الأحياء الدقيقة فى
مكافحة الآفات الزراعية

ان مناقشة دور الأحياء الدقيقة كآفات للنبات والانسان والحيوان سيتم مناقشته فيما بعد ، وما نحن بصدده الآن هو مناقشة دور الأحياء الدقيقة فى مكافحة الآفات الزراعية ، فقد استخدم الكبريت من قديم الزمان لمقاومة كثير من أمراض النبات الفطرية .. والواقع أن استخدام الكبريت كمبيد فطرى يعتمد على وجود بكتيريا ثيوباسيلس Thiobacillus التى تؤكسد الكبريت ببطء الى حمض الكبرتيك H_2SO_4 على سطح النبات وتؤدى بلطف الى تكوين وسط شديد الحموضة فتثبط نمو الفطريات وغيرها من الأحياء الدقيقة المرضية .

والمكافحة البيولوجية لأمراض النبات وغيرها من الآفات الزراعية بواسطة التشجيع المتعمد للأحياء الدقيقة المقاومة للآفات قد نجح فى بعض الحالات . فقد شنت حرب بيولوجيه ضد الأرانب (وكانت تعتبر آفة زراعية خطيرة فى ذلك الوقت) فى أوروبا قبل أكثر من ثلاثين عاما .. ففى مايو عام ١٩٥٢م تم إعداء بضع أرانب بمرض من أمراض الفيروسات المخاطية ثم أطلق سراحها فى أور Eure ولوار Loire فانتشر المرض بين الأرانب عند نهاية عام ١٩٥٣ فى ٢٦ مقاطعة فى فرنسا ووصل الى بلجيكا وهولندا وسويسرا وألمانيا ، وقتل نسبة تتراوح بين ٦٠ الى ٩٠٪ من الأرانب ، ثم وصل المرض بعد ذلك الى بريطانيا ، وهو متوطن الآن فى كل اوروبا ، وتكتسب الأرانب المناعة ضد المرض ببطء شديد ،وقد زادت الانتاجية الزراعية لبعض المناطق ثلاث أضعاف نتيجة القضاء على الأرانب ، ولولا هذا المرض لكان انعاش الزراعة فى أوروبا بعد الحرب أمراعسيرا .

وفى الامكان أيضا مكافحة العديد من الحشرات التى تسبب خسائر فى المحاصيل الاقتصادية ، وخاصة تلك التابعة لعائلة Lepidoptera ببكتيريا ممرضة لها بما يسبب القضاء على الحشرة والحفاظ على المحصول . فقد وجد أن بكتيريا Bacillus thuringensis وبكتيريات أخر مشابهة لها تصيب يرقات (ديدان) العديد من

الحشرات وخاصة تلك التابعة لعائلة قشريات الأجنحة (الفراشات وأبو دقيق) . وقد وجد أن هذه البكتيريا عندما تتجرثم يتكون بداخلها بللورات من بروتين سام للديدان (حيث يؤدى البروتين النقى الى ظهور نفس الأعراض التى تصيب اليرقات عند اصابتها بالبكتيريا المذكورة) وهذا البروتين غير قابل للذوبان فى الوسط الحمضى أو المتعادل ، ولكنه يذوب فى الوسط القلوى . ولما كان الوسط فى أحشاء تلك الديدان قلوى خفيف ، فان هذا البروتين يذوب وينتج عنه ذوبان الطبقة اللاصقة بين خلايا أحشاء الديدان فتنتشر مكونات الأحشاء فى دم اليرقة فيصبح شديد القلوية وتبدأ عملية الموت السريع لليرقة (الدودة) . وهذا البروتين غير سام للحيوانات الفقارية أو النباتات . ولذلك فهذا البروتين يعتبر طريقة مثلى لمقاومة كثير من الحشرات الضارة برشه على النباتات المصابة بديدان هذه الحشرات. وفى التطبيق العملى لا يستخدم البروتين نفسه فى الرش ، ولكن يستخدم البكتيريا المنتجة له بعد تجفيفها وادخالها فى مواد الرش. .

وينبغى الحذر واستعمال السلالات النقية من هذا الميكروب ، فبينما B. thuringensis غير ضارة بالانسان أو النبات، فهناك ميكروب مشابه له بدرجة كبيرة وهو B. cereus وهو ميكروب ممرض للانسان.

هذا . . . وقد بذلت عدة محاولات غير ناجحة لمكافحة الجراد ببعض أنواع البكتيريا ، وتوجد محاولات كثيرة حاليا للمقاومة البيولوجية بواسطة الأحياء الدقيقة لكثير من الآفات كالحشرات والفطريات والحشائش . . والبحوث فى هذا الاتجاه على أشدها بعد أن ظهر للناس الآثار السيئة للمبيدات الكيميائية المختلفة التى تستخدم لمكافحة الحشرات والفطريات والحشائش . فكثير من المبيدات تتميز بدرجة عالية من الثبات فتصبح خطيرة جدا على الانسان والبيئة والطبيعة .

وقد استغل الانسان معلوماته فى مجال المكافحة الحيوية للآفات الزراعية فى تطوير وسائل مدمرة للحياة وذلك باستخدام الأحياء الدقيقة الممرضة للانسان ونواتجها السامة لتحطيم الانسان وقتله وقتل

حيواناته النافعة ونباتاته الاقتصادية ، وهى ما تعرف الآن بوسائل الحرب الحيوية Biological warfare

حادى عشر : دور الأحياء الدقيقة فى انتاج ألياف الأنسجة

تستخدم الأحياء الدقيقة فى عملية تعطين لبعض الأنسجة النباتية للحصول على الألياف المستخدمة فى صناعة الأنسجة . وأقدم طرق التعطين هى تعطين ألياف الكتان ، وقد عرفت منذ آلاف السنين بهدف فصل الألياف السيليلوزية عن باقى المواد العضوية فى النبات ، ثم تستخدم الألياف فى صناعة الأنسجة . تلتصق الألياف السيليلوزية فى النبات ببعضها بمواد أسمنتية من البكتين يصعب التخلص منها بالطرق الطبيعية ويؤدى التعطين الى تحليل البكتين وفصل الألياف عن بعضها دون حدوث تحليل للألياف ، وتتم هذه العملية بغمر النباتات فى الماء فتبدأ الأحياء الدقيقة الهوائية فى النمو فى بداية الأمر حتى يستهلك الأكسجين الذائب ، وتصبح الظروف غير هوائية فتبدأ بكتيريا حمض البيوتريك اللاهوائية فى النمو وتحلل البكتين وتتحرر الألياف ، واذا طالت عملية التخمر هذه فان البكتيريا المحللة للسيليلوز قد تنمو وتسبب تحلل الألياف .

وتستخدم طرق مماثلة لتحرير الخلايا النشوية فى درنات البطاطس من البكتين وذلك للحصول على نشا البطاطس .

ثانى عشر : دور الأحياء الدقيقة فى معاونة الأحياء الأخرى

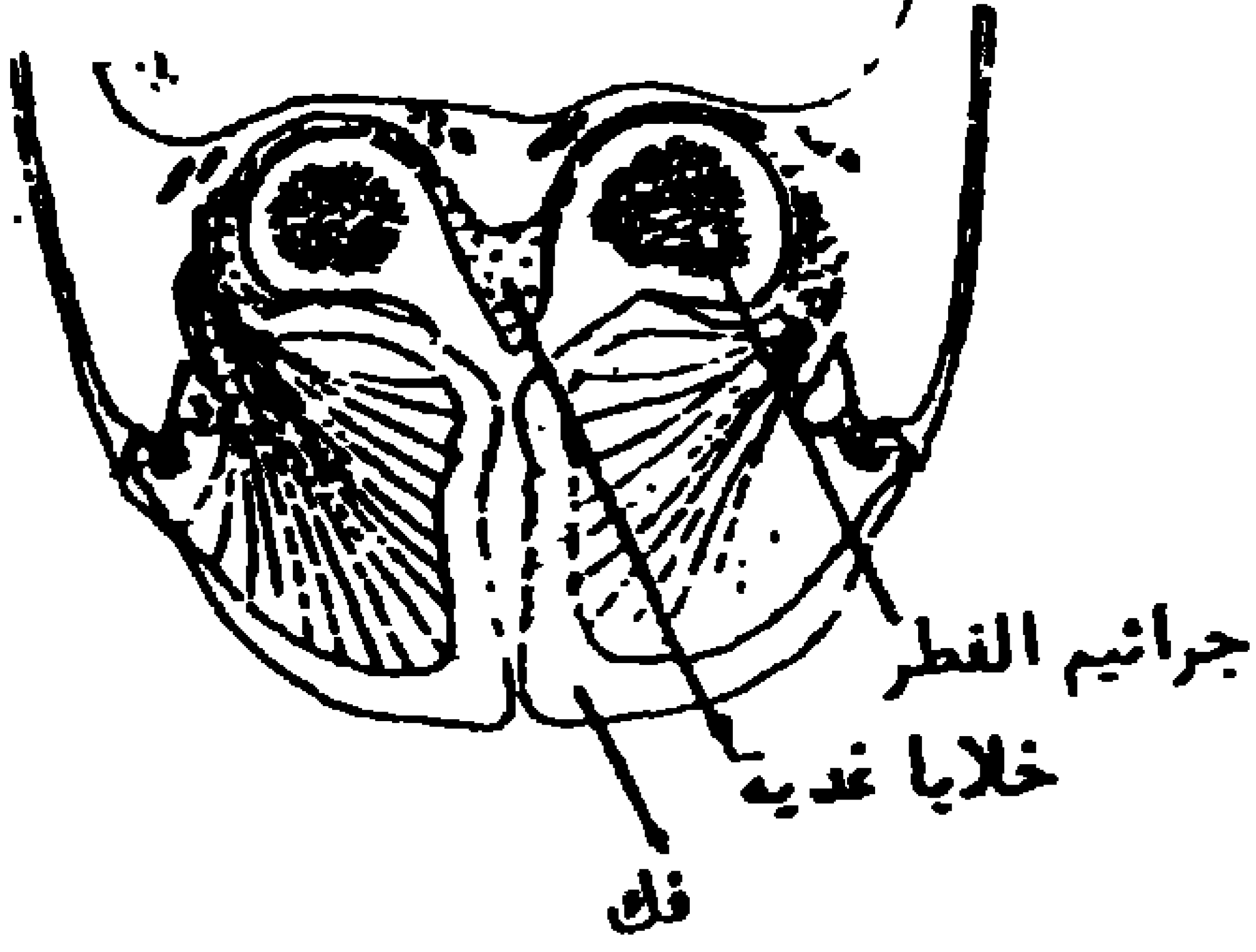
تعيش كثير من الأحياء الراقية معيشة حرة ، كذلك الحال بالنسبة للأحياء الدقيقة ، الا أن عدد ليس بالقليل من الأحياء الدقيقة تعيش معيشة تكافلية Mutualistic symbioses مع أحياء أخرى (بما فى ذلك الانسان والحيوان والنبات) يعاونها ويستفيد منها .

وتوجد أمثلة كثيرة للتعاون بين الأحياء الدقيقة وغيرها من الأحياء سواء الممثلة للضوء أو غير الممثلة للضوء كما يوجد أمثلة للتعاون بين الأحياء الدقيقة وبعضها البعض. وتختلف درجات التعاون بين الكائنات المتكافلة اختلافا كبيرا ، فقد يستفيد الطرفان من التعاون بدرجة متساوية ، وقد يستفيد أحد الطرفين أكثر من استفادة الطرف الآخر ، وعلى أى حال يمكن تقسيم حالات التكافل بصفة عامة الى نوعين هما :

(ا) التكافل الخارجي : Ectosymbiosis

وفيه يبقى الكائن الحى الدقيق خارج خلايا العائل . ومن أمثلة ذلك زراعة الفطريات للتغذى عليها بواسطة بعض أنواع النمل الأبيض Termite والمسماة ترمس Termes، والخنافس الحفارة للخشب Ambrosia beetles فحشرات النمل الأبيض المعروفة باسم ترمس Termes تبنى حجرات خاصة فى أعشاشها للفطريات تسمى حدائق الفطر Fungi garden أما خنافس Ambrosia الحفارة للخشب فيوجد فى رأسها تجاويف خاصة لتخزين جراثيم (أبواغ) الفطر (شكل ٢-٨) التى تنميها داخل أعشاشها ، وبذلك فهذه الحشرات تشبه الانسان الذى يزرع النباتات ويحميها من الآفات المختلفة ويحسن انتاجها ويتغذى عليها ويربى الحيوانات ويتغذى عليها ايضا .

وكثيرا ما يختلط الأمر على الباحثين للوهلة الأولى عند مشاهدة أحد الفردين المتكافلين يتغذى بالفعل على الفرد المتكافل الآخر . اذ أن ذلك يتعارض مع فهمنا عن التكافل على أنه ضرورة التواجد التعاوني معا . ولكن عند التعامل مع الأحياء الدقيقة كشريك فى التكافل فاننا فى الحقيقة لابد وأن نتعامل مع مجتمع من الأحياء الدقيقة وليس خلية بخلية . لذلك كثيرا ما تختلف الآراء بالنسبة للتكافل الخارجى .



شكل ٢ ـ ٨ : رسم توضيحي لقطاع خلال رأس خنافس أمبروسيا *Xyleborus monographus* يوضح التجاويف الخاصة لتخزين جراثيم (أبواغ) الفطر ٠٠



شكل ٢ ـ ٩ : تأثير العقد الجذرية على نمو النبات ٠ اثنين من نباتات البرسيم الأحمر نميتا في وسط غذائي خالي من النيتروجين المرتبط ٠ النبات جهة الشمال بدون عقد جذرية أظهر نموا ضعيفا للافتقار للنيتروجين ٠ أما النبات جهة اليمين ـ ذو العقد الجذرية فقد نما نموا طبيعيا ٠

(٢) التكافل الداخلي : Endosymbiosis

وفيه ينمو الكائن الحي الدقيق داخل خلايا العائل ، ويوجد منه أمثلة عديدة للتعاون بين الأحياء الدقيقة من جانب وبين كل من النباتات الزهرية واللازهرية والحيوانات الفقارية واللافقارية وغيرها ٠

وقد ذكرنا فيما سبق المعيشة التكافلية بين البقوليات والبكتيريا المثبته للنيتروجين رايزوبيم Rhizobium التي تعيش في العقد الجذرية ٠ وقد وجد أن زراعة البقوليات بدون تكوين العقد الجذرية في تربة خالية من هذه البكتيريا يؤدى الى تكوين نباتات ضعيفة (شكل ٢-٩) ومحصول منخفض٠

كما أن الميكوريزا Mycorrhiza هي أحد الأمثلة الشهيرة لتكافل الفطريات مع جذور النباتات الراقية (شكل ٢-١٠) وتتكون الميكوريزا نتيجة غزو أحد الفطريات لجذور أحد النباتات وتكون أجسام ثمرية ، ويعتقد أن الفقع الشائع الانتشار في الجزيرة العربية هو أحد أنواع الميكوريزا ٠ وهناك دلائل على أن طرفي التكافل في الميكوريزا ليسا متخصصين ، فالفطر الواحد يتعاون مع جذور العديد من النباتات ٠ كما أن جذور نفس النباتات قد تتعاون مع واحد من عدة فطريات لتكوين الميكوريزا ٠

وتتكافل الفطريات والطحالب معا لتكوين الأشنات Lichens وقد تتكون الأشنات بدلا عن ذلك من فطر وبكتيريا خضراء مزرقة ٠

أما بالنسبة للتكافل بين الحيوانات والأحياء الدقيقة فمن أشهر أمثلته الحيوانات المجترة والحشرات كالنمل الأبيض Termites ، فالحيوانات المجترة تتغذى على أعلاف غنية في السليلوز بينما لا تستطيع هذه الحيوانات انتاج الانزيمات المحللة للسليلوز ، ولذلك تعتمد الحيوانات المجترة على الأحياء الدقيقة (بروتوزوا وبكتيريا) المحللة للسليلوز في هضم غذائها وكذلك الحال بالنسبة لحشرة النمل الأبيض٠



شكل ٢-١٠ : ميكوريزا فاجوس سيلفاتيكا Fagus sybatica توضح الجذور المتنفخةوالهيفات الخارجية من سطحها .F.N. Meyer 1966

عن Mycorrhiza and other plant symbiases Academic Press, New York.

وقد استغل الانسان التعاون القائم بين البكتيريا وحشرة النمل الأبيض التى تتغذى على أخشاب الأشجار وأخشاب البيوت فى مكافحة هذه الحشرة الضارة حيث تحتوى هذه الحشرة فى قناتها الهضمية على بكتيريا Entrobacter ogglomerans وهى بكتيريا مثبتة للنيتروجين وهاضمة للسليلوز ٠ وهذه البكتيريا حساسة لأملاح التنجستات Tungstate والموليبدنات Molybdenate ٠ أما حشرة النمل الأبيض - ضمن الحشرات الأخرى نفسها ، فلا تتأثر بهذا المبيد الا - نتيجة فقدها لهذه البكتيريا الهاضمة للسليلوز والمثبتة للنيتروجين ، وتتجه الأبحاث الحديثة لاستخدام مبيدات للنمل الأبيض من التنجستات وأيضا الموليبدنات٠

وتتعاون الأحياء الدقيقة مع الانسان نفسه ، فالقناة الهضمية للانسان تحتوى على العديد من الأحياء الدقيقة التى لا غنى له عنها ٠ اذ أن تلك الأحياء الدقيقة تقوم بتكوين مجموعة هامة من الفيتامينات ، واذا تعرض الانسان لأى ظروف تؤدى الى قتل أو ازالة الأحياء الدقيقة من القناة الهضمية مثل تعاطى المضادات الحيوية أو غيرها من الكيميائيات التى تقتل الأحياء الدقيقة ، فمن الضرورى أن يشتمل غذائه على كميات كافية من الفيتامينات ، والا تعرض لأمراض نقص الفيتامينات المختلفة٠

وقد أثبتت الدراسات التى اجريت على الحيوانات الخالية من الأحياء الدقيقة Germ free animals أن وجود الأحياء الدقيقة فى الأمعاء مهما ليس فقط بسبب ما تنتجه من فيتامينات وعوامل نمو ، ولكن أيضا لأنها تكسب الحيوان مناعة ضد كثير من الأمراض ، فقد ثبت أن الحيوانات الخالية من الأحياء الدقيقة يتضخم المستقيم لديها ويصبح الجهاز الليمفاوى غير مكتمل التكوين ويقل انتاج الجلوبيولينات فى الدم بما يقلل مناعة الجسم للأمراض.

كما أن هناك صورا عديدة للتكافل بين البروتوزوا والطحالب حيث تستقبل بعض الهدبيات وذوات الأقدام الكاذبة بعض الطحالب . وفى المياه العذبة تكون الطحالب المتكافلة من نوع الطحالب الخضراء Chlorophyta أما فى مياه البحار فتكون الطحالب المتكافلة من الطحالب البنية أو الصفراء . وفى الحالتين على التوالى يسمى التكافل الناتج باسم الكلوريللا الحيوانية zoochlorellae والزنثيللا الحيوانية Zooxanthellae

وتوجد أمثلة عديدة للتكافل بين صور الحياة المختلفة يضيق المجال هنا عن ذكرها كلها .

ثالث عشر : دور الأحياء الدقيقة فى تطوير معارف الإنسان

ان دور الأحياء الدقيقة فى اكتشاف الانزيمات وتطور علم الانزيمات Enzymology وعلم الكيمياء الحيوية بصفة عامة مشهود به فى جميع المراجع ، بل ان الكثير من الكتب وكذلك المنشورات العربية تسمى الانزيمات خمائر. اذ أن كلمة Enzyme نفسها معناها (فى الخميرة) .

كما تقدمت علوم الطب والصيدلة وعلوم الأراضى وخصوبتها وعلوم الأغذية وطرق حفظها وعلوم البيئة والمحافظة عليها .وعلوم أمراض النبات ووقايتها وعلوم الطب البيطرى والثروة الحيوانية وغير ذلك من العلوم مما حدا بالجهات المسئولة عن التعليم فى جميع انحاء العالم الى

الاهتمام بفروع علوم الأحياء الدقيقة اهتماما خاصا ليس فقط لنا لها من أهمية في احداث الأمراض ، بل للأدوار الكثيرة والمتعددة التي تلعبها في مختلف مجالات الحياة .

ونتيجة للامكانيات الهائلة للأحياء الدقيقة في العديد من المجالات ، فقد أرسيت حديثا قواعد علم جديد ، وهو علم التقنية الحيوية Biotechnology والذي يهدف الى استخدام الأحياء الدقيقة بقدراتها المختلفة في انتاج مواد يستفيد منها الانسان أو التخلص من مواد يرغب التخلص منها ... ولم يقتصر الأمر على ذلك ، بل أن معارف الانسان الحالية في مجال الوراثة والبيولوجيا الجزيئية ترجع بصفة أساسية للأحياء الدقيقة ، وكان للأحياء الدقيقة أكبر الفضل في كشف الشفرة الوراثية Genetic code وكيفية بناء البروتين والأحماض النووية (وهما أهم مكونات الكائنات الحية) وكيفية التحكم في بناء المركبات المختلفة في الخلايا بواسطة المورثات (الجينات) المختلفة ، وكذلك نقل الصفات الوراثية من جيل الى جيل . وقد توصل العلماء حاليا الى ارساء قواعد علم جديد آخر ، وهو علم الهندسة الوراثية Genetic engineering وذلك بعد أن تقدمت تقنية تكوين خلطات من الحمض النووي د ن أ Recombinant DNA technology وبدأ الانسان في استغلال هذه التقنية مرة ثانية من أجل تطوير أحياء دقيقة ضارية (كوسائل للحرب البيولوجية) أو من أجل تنشيط أو تعطيل عمل مورثات (جينات) معينة ، وقد بدأت التقارير العلمية الحديثة تحمل أنباء مواد كيميائية تستخدم في معالجة المورثات Gene therapy .

وفي الحقيقة أن هذا الموضوع مازال معروضا على هيئة الأغذية والأدوية الامريكية Food & Drug Administration للبت في انتاج مثل تلك المواد الكيميائية وعرضها في الأسواق (ASM news july 1985,pp322-3) كما يمكن الآن نقل مورثات تخزين البروتين في البقوليات الى بكتيريا القولون والمعروفة بسرعة نموها على أساس امكانية الاستفادة من البكتيريا في انتاج كميات كبيرة من البروتين في فترات زمنية قصيرة دون الحاجة للانتظار الى المواسم الزراعية من عام لعام والتي يتحدد

الانتاج فيها بمساحة الأرض الزراعية ٠

رابع عشر : دور الأحياء الدقيقة فى إحداث الأمراض

تسبب الأحياء الدقيقة بأقسامها المختلفة (الخلوية بقسميها حقيقية النواه وبدائية النواه) وغير الخلوية ٠ أمراضا عديدة للانسان والحيوان والنبات ، وهذا هو الدور السلبى للأحياء الدقيقة الذى دفع الانسان فى بادئ الأمر الى الاهتمام بالأحياء الدقيقة ٠ ورغما عن ذلك الدور الايجابى الهام الذى تلعبه الأحياء الدقيقة فى استمرار الحياة على الأرض ورغما عن كل ما تؤدية من فوائد (النقاط الثلاث عشر السابقة) للانسان وغيره من الكائنات الحية فان جل اهتمام الانسان بالأحياء الدقيقة لم يبدأ الا لكونها تسبب الأمراض ٠

ومازال العديد من الناس يصاب بالرعب والذعر لمجرد معرفة أن الأحياء الدقيقة تعيش فى الجو المحيط بنا وعلى سطح جلدنا بل وفى أحشائنا أيضا ، والسبب فى ذلك بسيط اذ أننا جميعنا نكره المرض وندعم بحماس البحوث التى تهدف الى تفهم أسباب الأمراض المختلفة وكيفية علاجها ، وذلك واضح فيما يصرف على أبحاث أمراض السرطان وأبحاث مرض الايدز AIDS (وهى رمز للاسم الحقيقى للمرض ٠٠ وهو الفقد المكتسب للمناعة Aquired Immune Defficiency Syndrome بيد أننا قد نتحفظ عندما يتعلق الأمر بدراسة الفقع أو بيئة الميكوريزا أو الأشنات أو غيرها ٠ لذلك فقد ازدهرت علوم الأحياء الدقيقة (الميكروبيولوجيا) الطبية ازدهارا كبيرا خلال الخمسون سنة الماضية ٠٠ وقد أدى ذلك الى ترك الميكروبيولوجيا غير الطبية فى حالة مهملة الى حد ما الى أن بدأ تفهم الناس للدور الايجابى الهام للأحياء الدقيقة فاستثمرت أموال طائلة فى جميع مجالات الأحياء الدقيقة بما أدى الى اكتشافات هامة فى مجالات الوراثة والطب والصيدلة والكيمياء الحيوية والميكروبيولوجيا التطبيقية وعلوم البيئة ، كما أدت هذه الاكتشافات الى ارساء قواعد علوم جديدة - كما سبق الاشارة الى ذلك - مثل الهندسة

الوراثية والتقنيه الحيوية والبيولوجيا الجزيئية وغيرها .

ويوضح الجدول (٢-٤) بعض الأمراض المختلفة ومسبباتها من ذوات النواة الحقيقية وذوات النواة البدائية وكذلك الفيروسات في الانسان والحيوان . كما يوضح الجدول (٥-٢) أمثلة لبعض الأمراض النباتية المختلفة ومسبباتها من الأحياء الدقيقة حقيقية النواة أو بدائية النواة أو الفيروسات .

جدول ٢ـ٤ : بعض الأمراض التى تسببها الأحياء الدقيقة حقيقية النواه وبدائية النواه والفيروسات للانسان والحيوان ومسبباتها وأعراضها ...

المرض	مسبباته	الأعراض المرضية	طريقة العدوى
(١) الأمراض الناتجة عن ذوات النواه الحقيقية (البروتوزوا)			
أ ـ السوطيات			
اسهال السوطيات	Giardia lamblia	تصيب بعض الحيوانات والانسان وتسبب الاسهال .	تناول غذاء أو شراب ملوث بفضلات انسان مريض عن طريق الذباب .
عدوى القناة البولية التناسلية	Trichormonas vaginalis	التهاب وآلام فى القناة البولية التناسلية لبعض الحيوانات .. والانسان .	الاتصال الجنسى
مرض النوم الأفريقى	Trypanosoma gambiense	وهى تصيب عدد كبير من ذوات الدم الحار والبارد ، فهى تتطفل على كثير من الأسماك والبرمائيات والزواحف والطيور والثدييات وتسبب مرض النوم فى الانسان	ذبابة تسى تسى
	T. rhodesiense		ذبابة تسى تسى
مرض الدراق الطفيلى أو داء شاغاس الأمريكى .	T. cruzi		حشرة ترياياتوميد Triatomid
مرض الليشمانيا	Leishmania donovani	اصابة الكبد أو الطحال أو العقد الليمفاوية أو نخاع العظم .	ذبابة الرمل Phlebotcmus
مرض الليشمانيا	L. tropica	ندب جلدية Skin lesions	ذبابة الرمل
مرض الليشمانيا	L. brazilensis	اصابة أنفيلعومية	ذبابة الرمل

تابع: جدول ٢ ـ ٤ : بعض الأمراض التى تسببها الأحياء الدقيقة حقيقية النواه وبدائية النواه والفيروسات للانسان والحيوان ومسبباتها واعراضها ...

المرض	مسبباته	الأعراض المرضية	طريقة العدوى
ب ـ ذوات الأقدام الكاذبة :ـ			
دوسنتاريا أميبية	Entamoeba histolytica	اسهال ، وقد تصل العدوى الى الكبد أو الطحال ، أو المخ مع الدم.	تناول مأكولات أو مشروبات ملوثة بالأكياس الأميبية .
	Naeglaria sp.	التهاب أميبى للأغشية السحائية الدماغية .	اختراق الأغشية المخاطية .
جـ ـ الهدبيات :ـ			
الدوسنتاريا البلانيدية	Balantidium coli	اسهال	تناول مأكولات أو مشروبات ملوثة بفضلات شخص مريض .
د ـ الجرثوميات :ـ			
الملاريا	Plasmodium falciparum P. vivax, P. ovale P. malariae	حمى ورعشة تأتى بصفة دورية مصحوبة بفقر دم .	أنثى بعوض الانوفيلس
التهاب الأمعاء	Isospora belli I. huminis	اسهال والتهاب فى الأمعاء	تناول أغذية ومشروبات ملوثة بفضلات شخص مريض .
(٢) الأمراض الناتجة عن ذوات النواه الحقيقية (الفطريات)			
Candidiases.	Candida albicans	قد تسبب بثرات أو بقع جلدية أو على الفم أو فى المهبل أو الرئتين أو تغزو الجسم كله .	الخميرة توجد طبيعيا فى الغشاء المخاطى للقناة الهضمية والقناة التنفسية ، والمهبل فى الاناث وتتحول للعدوى عندما تضعف قدرة الجسم المناعية نتيجة تعاطى المضادات الحيوية أو نتيجة الاصابة بأمراض أخرى

تابع: جدول ٢ـ٤ : بعض الأمراض التي تسببها الأحياء الدقيقة حقيقية النواه وبدائية النواه والفيروسات للانسان والحيوان ومسبباتها وأعراضها ...

المرض	مسبباته	الأعراض المرضية	طريقة العدوى
التهاب مزمن للأغشية السحائية Cryptocosis	Cryptococcus neoformans	التهاب الأغشية السحائية وظهور بثرات أو بقع جلدية أو في الرئتين ، وقد يؤدى الاهمال في العلاج الى الموت .	فضلات الطيور هي المصدر الرئيسي ولا ينتقل المرض من شخص الى شخص .
Blastomycosis	بلاستومايسس ديرماتيتدس Blastomyces dermatitides	قد تنحصر العدوى على الرئتين ، وقد تنتشر خلال الجسم كله بما في ذلك الجلد والعظام والأحشاء والأغشية السحائية وتظهر على الجلد دمامل وأورام حبيبية ، وتصيب الانسان وعدد من الحيوانات .	حيث أن الميكروب مصدره التربة فان ابتلاع التراب واستنشاقه هو وسيلة العدوى ، ولا ينتقل المرض من شخص الى شخص.
Coccidioidoses	Coccidioides immitis	تحدث اصابة في الجهاز التنفسي تشبه أعراض الانفلونزا . ونادرا ما ينتشر المرض الى جميع أعضاء الجسم مسببا أعراضا تشبه أعراض السل . وقد يمتد أيضا للجهاز العصبي وهى تصيب الانسان وعدد من الحيوانات .	ابتلاع التراب أو استنشاقه ، ولا ينتقل المرض من شخص الى شخص.
Geotrichiases	Geotrichum candidum	التهاب شعبى وبثرات على الجلد وتصيب الحيوان والانسان .	قد تحدث العدوى عن طريق الفم والقناة الهضمية .

تابع : جدول ٢ـ٤ : بعض الأمراض التى تسببها الأحياء الدقيقة حقيقية النواه وبدائية النواه والفيروسات للانسان والحيوان ومسبباتها وأعراضها ...

المرض	مسبباته	الأعراض المرضية	طريقة العدوى
ب ـ الأمراض الجلدية	Dermatomycoses		
مرض القوباء Tinea	Trichophyton	يستطيع أن ينمو على الجلد او فى الشعر أو تحت الاظافر	تنتقل بالاتصال المباشر بين الاشخاص المرضى والأصحاء ، أو من طريق شعر ملوث أو قشر الرأس
	Microsporum	يستطيع أن ينمو على الجلد وأحيانا تحت الاظافر .	
	Epidermophyton	هذه الفطريات مسئولة عن امراض القوباء التى تصيب الجلد سواء المغطى بالشعر او بدون شعر . كما أنها تسبب اهتراء جلد أصابع القدمين المعروفة باسم أقدام الرياضيين tinea pedis وتعتبر الحيوانات كالكلاب والقطط مستودعا طبيعيا لهذه الميكروبات وخاصة تلك التى تسبب القوباء الحلقية فى الرأس .	
جـ ـ الأمراض تحت الجلدية	Subcutaneous		
تقرحات جلدية	Sporotrichum schenkii	تتكون قرح جلدية تسمى سبوروتريكوس Sporotrichoses والميكروب مصدره التربة ، ولكنه يصل الى ما تحت الجلد من عدة طرق . وهى تصيب الانسان وعدد من الحيوانات .	تنتقل الى تحت الجلد من خلال التشققات الجلدية أو وخز الشوك أو الابر أو الجروح .... وغيرها .
(٢) الأمراض الناتجة عن ذوات النواه البدائية (البكتيريا)			
حمى التيفويد Typhoid fever	Salamonella typhi	يتكاثر الميكروب فى القناة الهضمية ثم يغزو الدم عن طريق اللمف والقناة الزورية ومنها ينتشر الى جميع أنحاء الجسم .	تناول ماكولات أو مشروبات ملوثة بفضلات شخص مريض .

تابع :جدول: ٢ـ٤ : بعض الأمراض التى تسببها الأحياء الدقيقة حقيقية النواه وبدائية النواة والفيروسات للانسان والحيوان ومسبباتها وأعراضها ...

المرض	مسبباته	الأعراض المرضية	طريقة العدوى
الكوليرا	Vibrio cholerae	اسهال شديد يؤدى الى تجفيف الجسم . فقد فى أملاح الجسم قد ينتهى بصدمة عصبية ثم الموت .	تناول غذاء أو مشروبات ملوثة بفضلات شخص مريض بالذباب . وعمال المطاعم وعدم التخلص من القمامة .... الخ قد تلعب دورا فى انتشار المرض .
الدوسنتاريا البكتيرية B. dysentery	Shigella dysentariae	اسهال وبثرات عند نهاية القناة الهضمية . وشد عضلى بطنى وحمى .	تناول غذاء . او مشروبات ملوثة بفضلات شخص مريض .
الدفتيريا Diphtheria	Corynebacterium diphtheria	يظل الميكروب فى الغشاء المخاطى للقناة التنفسية وينتج مواد سامة تنتشر خلال الجسم تحدث آلاما موضعية وتتكون أغشية كاذبة دفتيرية تغلق ممرات الهواء عند التنفس .	ابتلاع الرذاذ الناتج من المرضى أثناء الكحة والعطس .
الحمى المعوية والتسمم الغذائى (باراتيفويد) Enteric fevers	Salmonella typhimorium S. schothmulleri S. choleraesuis	هذا النوع من الحمى المعوية أخف تأثيرا من حمى التيفويد ، ولذلك يسمى أحيانا شبيه التيفويد وقد تظل هذه البكتيريا فى الأمعاء .. أو تنتشر خلال الجسم كله	تناول مأكولات .. أو مشروبات ملوثة بفضلات شخص مريض الذباب وعمال المطاعم . واستعمال أدوات الشخص قد تساعد على انتقال المرض .

تابع: جدول ٢ ـ ٤ : بعض الأمراض التى تسببها الأحياء الدقيقة حقيقية النواه وبدائية النواه والفيروسات للانسان والحيوان ومسبباتها وأعراضها ...

المرض	مسبباته	الأعراض المرضية	طريقة العدوى
السل Tuberclosis	Mycobacterium tuberclosis	تتكون بثرات على الرئتين مصحوبة بكحة شديدة . وقد ينتشر الميكروب من البثرات الى أجزاء أخرى بالجسم والى أشخاص آخرين عن طريق الرذاذ .	ابتلاع الرذاذ الناتج عن المرضى أثناء الكحة والعطس
الطاعون Plague	Yersinia pestis	تضخم العقد الليمفاوية. وعندما تصل العدوى الى الرئتين يصبح الشخص معدي ، والمرض ينتقل بسرعة بين الأشخاص الذين يعيشون فى مكان واحد .	ابتلاع الرذاذ الناتج عن المرضى أثناء الكحة والعطس وعن طريق الفئران والبراغيث . والفئران هى المستودع الطبيعى للميكروب .
التهاب الأغشية السحائية .. Mengigococcal menigitis	Neiseria meningitidis	يوجد الميكروب طبيعيا فى الزور في حوالى ٢٥ ٪ من الناس ولكنه لأسباب غير معروفة يغزو الدورة الدموية ويصل للأغشية السحائية التى تحيط بالحبل العصبى .	ابتلاع الرذاذ الناتج عن المرضى أثناء الكحة والعطس .
حمى سكارلت Scarlet fever	Streptococcus pyogenes	تظهر الاصابة أولا فى الزور .ثم تظهر آلام جلدية . وقد تتحول الى آلام روماتيزمية فيما بعد .	ابتلاع الرذاذ الناتج من الأشخاص المرضى أثناء الكحة والعطس ..
الانفلونزا البكتيرية	Hemophilus influenza	اصابة الجهاز التنفسى وخاصة في الأطفال وينتج عنها التهاب الأغشية السحائية فى الدماغ فى الأطفال بصفة خاصة .	ابتلاع الرذاذ الناتج عن الكحة والعطس للأشخاص المرضى .
السعال الديكى Whooping cough	Bordetella Pertussis	يسبب كحة خاصة تنتهى بسعال يشبه صياح الديك .	ابتلاع الرذاذ الناتج عن الكحة والعطس للأشخاص المرضى .

تابع: جدول ٢—٤ : بعض الأمراض التى تسببها الأحياء الدقيقة حقيقية النواه وبدائية النواه والفيروسات للانسان والحيوان ومسبباتها وأعراضها ...

المرض	مسبباته	الأعراض المرضية	طريقة العدوى
الالتهاب الرئوى Pneumococcal Pneumonia	Streptococcus pneumonia	حوالى ٤٠ – ٧٠ ٪ يحملون الميكروب بصفة طبيعية فى الزور. ويتحول الميكروب الى الحالة المرضية عندما تضعف مناعة الجسم أو عند اصابته بأمراض أخرى .	ابتلاع الرذاذ الناتج عن الكحة والعطس للأشخاص المرضى .
الحمى الفحمية أو الجمرة الخبيثة Anthrax	Bacillus anthracis	المرض يصيب عادة الحيوانات الأليفة والبرية بما فى ذلك الثدييات والطيور والزواحف ... ولكنه يصيب الانسان عند اتصاله المباشر بالحيوان عن طريق الجروح ويتكون انتفاخ كبير عند مكان الاصابة ، وعادة يصحب ذلك انتشار البكتيريا فى جميع أنحاء الجسم عن طريق الدم .	الاتصال المباشر
التلريميا Tularemia	Francisella tularensis	ينتشر المرض عادة بين الفئران وقد ينتقل للانسان بواسطة الحشرات أو عند تداول جلد أو أحشاء الحيوانات المريضة . وينتشر الميكروب فى الدم عن طريق العقد الليمفاوية وتتكون بثرات فى الرئتين والطحال والكبد ، وقد يصل الى المخ أيضا .	الاتصال المباشر ، وعن طريق الحشرات . والمستودع الطبيعى للميكروب هو الفئران البرية .
البروسيللا Brucellosis	Brucella melitensis B. abortis B. suis	تصيب السلالات الثلاث مدى واسع من الحيوانات الثديية . رغم أن كلا منها له عوائل مفضلة . وهى تسبب الاجهاض فى الماشية . كما أنها تصيب الانسان وتتكاثر داخل كرات الدم البيضاء حيث تعمل على انفجار هذه الخلايا بصفة دورية وتعرف حينئذ بالحمى المتموجة Undulant fever .	الاتصال المباشر .

تابع: جدول ٢ ـ ٤ : بعض الأمراض التى تسببها الأحياء الدقيقة حقيقية النواه وبدائية النواه والفيروسات للانسان والحيـــوان ومسبباتها وأعراضها . . .

المرض	مسـبباته	الأعراض المرضيـــة	طريقة العدوى
السيلان Gonorrhea	نيسيريا جونوريا Neisseria gonorrhoeae	رغم أن العدوى تكون عادة محدودة فى الجهاز التناسلى ، الا أنهـا قد تتطور وتنتشر فى الجسم كلـه . والأطفال المولودين عن أمهـات مريضة بالسيلان قد يصابون فـى العيون خلال مرورهم من القنـاة التناسلية عند الولادة .	ينتقل خـلال الاتصال الجنسى .
الزهرى Syphilis	تريبونيما بلاديم Treponema pallidum	تكون العدوى أيضا فى الجهـاز التناسلى ولكنها قد تنتقل للمولود من أمهات مرضى أثناء الولادة . وبعد الاتصال الجنسى فـان الميكروب يخترق الغشاء المخاطى للأعضاء الجنسية ويكون بثرات أولية Chancre وبعد أسابيـع تتكون بثرات ثانوية فى العيـون والعظام والمفاصل وحتى الجهـاز العصبى المركزى ، واذا لم يعالـج فانه بعد عدة سنوات قد تتكون بثرات ثالثة عند صمامات القلب .	ينتقل خلال الاتصال الجنسى .
التيتانوس Tetanus	كلوستريديـم تيتانـى Clostridium tetani	الميكروب مصدره الطبيعى التربـة وفضلات الحيوانات ولكن لا يوجـد فى فضلات الانسان وهو ميكـروب لا هوائى حتمى وعند تلوث الجروح به وخاصة الجروح الغائرة حيـث تتوفر الظروف اللاهوائية فـان الميكروب ينمو وينتج مواد سـامة تؤثر على الحبل العصبى .	عن طريق الجروح .
الغنغرينا Gas gangrena	Clostridium perfringens Cl. novyi Cl. septicum	وكلها ميكروبات لا هوائية حتميـة وعند تلوث الجروح فان نموهـا يكون مصحوبا بالتخمر وتنتج غاز الهيدروجين ومواد سامة .	عن طريق الجروح .

تابع: جدول ٢ـ٤ : بعض الأمراض التى تسببها الأحياء الدقيقة حقيقية النواه وبدائية النواه والفيروسات للانسان والحيوان ومسبباتها وأعراضها ...

المرض	مسبباته	الأعراض المرضية	طريقة العدوى
Leptosperosis	Leptospira icterohaemorrhagiae L. canicola L. Pomona	تسبب هذه الميكروبات أعراض بسيطة مزمنه فى الفئران تؤدى الى افراز هذه الميكروبات بصفة دائمة فى بول الفئران وينتج المرض عن تلامس الانسان مع الفئران وخاصة بولها حيث تخترق الميكروبات الجلد وتنتشر فى الدم .	عن طريق الجروح .
التيفوس أو الحمى النمشية Typhus	ركتسيا Richettsia	يحمل الميكروب من شخص الى شخص بواسطة القمل والبراغيث . والمستودع الطبيعى هو الهوام كالفئران ، وتسبب نسبة عالية من الموت فى الانسان عند انتشارها وأكثر شهرة فى الشرق الأقصى .	لدغ الحشرات .
التيفوس الجرب Scrub typhus	ركتسيا Richettsia	وهو معروف أيضا فى الشرق الأقصى والمستودع الطبيعى للميكروب هو الحشرات الصغيرة ، وينتقل من جيل الى جيل عبر البيض وينتقل للفئران عن طريق العناكب والمفصليات . ولذلك فالفئران مستودع ثانوى وينتقل منها للانسان بواسطة لدغ البراغيث .	لدغ الحشرات .
حمى كيو Q fever	ركتسيا Richettsia	يصيب هذا الميكروب عديد من الحيوانات (عدا الانسان) كالماعز والغنم والأبقار . وقد يصل الميكروب الى الانسان عن طريق شرب لبن ملوث،عن طريق الاتصال المباشر بحيوانات المزرعة .	عن طريق الاتصال المباشر بحيوانات المزرعة المصابة أو لدغ الحشرات أو شرب لبن ملوث أو استنشاق هواء ملوث بالميكروب .

تابع: جدول ٢-٤ : بعض الأمراض التى تسببها الأحياء الدقيقة حقيقية النواه وبدائية النواه والفيروسات للانسان والحيوان ومسبباتها وأعراضها ...

المرض	مسبباته	الأعراض المرضية	طريقة العدوى
حمى الببغاء Psitticosis	Chlamydia psittaci	التهاب الرئتين . حمى	وصول فضلات الطيور المريضة الى هواء تنفس الانسان .
Lymphogranuloma venereum	C. trachomatis وأحيانا C. psittaci	تقرحات جلدية وتضخم العقد الليمفاوية فى أماكن الأعضاء الجنسية من الجسم .	الاتصال الجنسى مع المرضى .
التراكوما Trachoma	C. trachomatis	تقرحات جلدية للعين والمناطق المحيطة بها ، وقد تصل الى حد العمى .	دعك العين باليد الملوثة أو أى أشياء أخرى ملوثة .
التهاب الملتحمة Inclusion Conjunctivitis	C. trachomatis	التهاب الملتحمة - الغشاء المخاطى لباطن الجفن .	المواليد حديثى الولادة قد تتلوث عيونهم عند الولادة من القناة التناسلية للأمهات المرضى . أما البالغين فتحدث الاصابة عند الاتصال الجنسى واستعمال أصابعهم لدعك عيونهم فيما بعد .

تابع: جدول ٢ـ٤ : بعض الأمراض التى تسببها الأحياء الدقيقة حقيقية النواه وبدائية النواه والفيروسات للانسان والحيوان ومسبباتها وأعراضها ...

المرض	الميكروب المسبب	بيانات خاصة
(٣) الأمراض الناتجة عن الأحياء الدقيقة غير الخلوية (الفيروسات)		
شلل الأطفال فى الانسان	فيروس بوليو Poliovirus	يوجد الفيروس فى براز الانسان السليم . ويصيب الأطفال الصغيرة فى السن ونسبة بسيطة من الأطفال الذين يصابون بهذا المرض يحدث لهم شلل . والفيروس من فيروسات البيكورنا .
الحمى القلاعية أو القدم والفم	فيروس القدم والفم Foot and Mouth Disease Virus (FMDV)	وهو مرض حاد سريع الانتشار فى الحيوانات مشقوقة الظلف مثل الأبقار والأغنام والماعز. ترتفع درجة الحرارة وتحدث تقرحات فى الفم وبين الأظلاف ويسبب نفوق الصغار . ونقص انتاج اللبن ونقص وزن الحيوان . والفيروس من فيروسات البيكورنا .
التهاب المخ الشوكى فى الطيور .	فيروس التهاب المخ الشوكى فى الطيور. Avian encephalitis virus	يحدث المرض فى الكتاكيت عمر ٢ - ٣ أسابيع فتضعف عضلات الأرجل ولا تقدر على المشى . ويحدث ارتعاش فى الرأس والرقبة ولا تستطيع الوصول للأكل وتنام على الجانب وتموت . والفيروس المسبب من فيروسات البيكورنا .
الحصبة الألمانى Rubella فى الانسان .	فيروس الحصبة الألمانى Rubivirus	أعراض جلدية على هيئة بثرات حمراء اللون وتشوهات فى المواليد وحمى وارتفاع فى درجة الحرارة وصعوبة فى التنفس . والفيروس من فيروسات التوجا .
الحمى الصفراء فى الانسان	فيروس الحمى الصفراء أو Yellow fever virus Flavivirus	تختلف شدة المرض من أعراض بسيطة مثل الانفلونزا الى عدوى مفاجئة ومميتة . فيحدث ارتفاع فى درجة الحرارة ورعشة وصداع وآلام فى الظهر وتظهر أعراض الصفراء فى خلال ثلاثة أيام . والفيروس المسبب من فيروسات التوجا .

تابع :جدول: ٢ـ٤ : بعض الأمراض التى تسببها الأحياء الدقيقة حقيقية النواه وبدائية النواه والفيروسات للانسان والحيوان ومسبباتها وأعراضها ...

المرض	الميكروب المسبب	بيانات خاصة
الاسهال المركب فى الأبقار	فيروس اسهال الأبقار .. Bovine diarrhaea virus	مرض منتشر فى جميع أنحاء العالم . ويسبب المرض ارتفاع فى درجة الحرارة تستمر الفيروسات فى الدم لفترة طويلة وتتراوح نسبة الوفيات فى الأبقار من ٤ - ٨٪ .. وينتقل المرض بالاحتكاك المباشر بين الأبقار المريضة والسليمة . والفيروس المسبب من فيروسات التوجا .
الاسهال الفيروسى فى العجول الصغيرة	فيروس الاسهال فى العجول Calf diarrheal virus	يصيب الفيروس الأطفال والحيوانات الصغيرة كالعجول والأغنام والطيور ، ويسبب الاسهال فى فصل الشتاء والربيع ، وأحيانا على مدار العام فى المناطق المعتدلة والشبه استوائية ، والفيروس المسبب من فيروسات الريو .
اللسان الأزرق	فيروس اللسان الأزرق Blue tongue virus	يصيب الحيوانات المجترة عامة والأغنام بصفة خاصة وهو منتشر فى جميع أنحاء العالم وخاصة الشرق الأوسط حيث يظهر لون أزرق فى كل الأغشية المخاطية للفم واللسان وحول الفم وتصل نسبة النفوق بين ٥ الى ٢٥٪ . والفيروس المسبب من فيروسات الريو .
طاعون الخيل	فيروس الحصان الأفريقى African horse sickness virus	يصيب الخيول والحمير والبغال ، وهو مرض وبائى سريع الانتشار بين أفراد العائلة الخيلية ولا يصيب الانسان والحيوانات الأخرى ، وينتقل الفيروس عن طريق البعوض وتصل نسبة النفوق الى ٩٥٪ . والفيروس من فيروسات الريو .
الجمبورو فى الطيور	فيروس مرض الجمبورو Gumboro disease virus	يصيب صغار الكتاكيت فيقل الاقبال على الأكل ويصبح الريش خشنا مع اسهال شديد وارتعاش واجهاد ، وتصل نسبة الموت الى ٢٠ - ٣٠٪ . والفيروس من فيروسات الريو .

تابع: جدول ٢ـ٤ : بعض الأمراض التى تسببها الأحياء الدقيقة حقيقية النواه وبدائية النواه والفيروسات للانسان والحيوان ومسبباتها وأعراضها ...

المرض	الميكروب المسبب	بيانات خاصة
التهاب الشعب المعدى فى الطيور	فيروس التهاب الشعب المعدى فى الطيور Avian infectious bronchitis virus	يسبب الفيروس التهاب معدى حاد فى الطيور وينتج عنه خسائر اقتصادية كبيرة فى صناعة الدواجن نتيجة لنقص البيض واللحم ، كما يحدث تشوهات وانخفاض جودة البيض الناتج . والفيروس المسبب من الفيروسات التاجية (الكورونا) .
الاسهال فى العجول حديثى الولادة	فيروس الكورونا فى الأبقار Bovine corona virus	يسبب هذا الفيروس اسهال فى الانسان والحيوان وخاصة فى الصغار حديثى الولادة ويكون البراز مصحوبا بمخاط . وتتميز بنسبة نفوق عالية . والفيروس المسبب من الفيروسات التاجية (الكورونا) .
حمى وادى الرفت فى الانسان والحيوان .	Rift Valley Fever virus	يصيب الفقاريات ويسبب ارتفاع فى الحرارة وآلام شديدة بالمعدة والأمعاء مع نزيف مع انفصال فى الشبكية فى الانسان ، ويسبب وفيات عالية فى الانسان ويسبب اجهاض الأغنام والأبقار الحوامل . وينتقل المرض بواسطة البعوض. والفيروس المسبب من فيروسات بونيا Bunyaviridae .
الانفلونزا فى الانسان والحيوان .	فيروس الانفلونزا Influenza virus	من الفيروسات المخاطية الأصلية Orthomyxovirus ويصيب الانسان والعديد من الحيوانات كالخيول والخنازير والطيور بأنواعها . والاصابة تظهر فى صورة أعراض تنفسية حادة ورشح وارتفاع الحرارة والتهاب رئوى وقد يؤدى الى الموت .
النيوكاسل فى الطيور .	فيروس مرض النيوكاسل Newcastle disease virus	وهو مرض معدى سريع الانتشار . ويشكل المرض خطورة كبيرة فى صناعة تربية الدواجن فى معظم بلدان العالم وتكون الأعراض على صورة اسهال مدمم وارتعاشات والتواء وتقلص الرقبة وشلل فى الأرجل والأجنحة ونزيف فى القناة الهضمية . وقد تحدث الاصابة فى الجهاز التنفسى والعصبى ، وقد تصل نسبة النفوق الى ٩٠ - ١٠٠٪ . والفيروس المسبب من الفيروسات شبه المخاطية Paramyxoviruses .

تابع: جدول ٢ ـ ٤ : بعض الأمراض التي تسببها الأحياء الدقيقة حقيقية النواه وبدائية النواه والفيروسات للانسان والحيوان ومسبباتها وأعراضها ...

المرض	الميكروب المسبب	بيانات خاصة
الحصبة في الانسان	فيروس الحصبة Measels virus	يصيب الأطفال عادة . وتختلف شدته من أعراض بسيطة الى أعراض حادة تظهر على صورة ارتفاع فى درجة الحرارة وظهور طفح جلدى أحمر ورشح وصعوبة فى التنفس . وقد تؤدى الاصابة الى الموت ، والفيروس من الفيروسات شبيهة المخاطية .
الطاعون البقرى	فيروس الطاعون البقرى Rinderpest virus Cattle plaque virus	وهى من فيروسات شبه المخاطية أيضا . وتسبب خسائر كبيرة فى الحيوانات المجترة ويتميز بالتهابات وتقرحات فى القناة الهضمية مع اسهال شديد ، والمرض سريع الانتشار ووبائى بين الأبقار والجاموس والماعز والأغنام . وقد تصل نسبة النفوق الى ٩٠ - ١٠٠ ٪ .
مرض الكَلَب السُعَار	فيروس مرض الكلب Rabies disease virus	وهو من فيروسات الرابيد و Rhabdo العصوية ويعتبر من الأمراض الفتاكة ويهاجم كل أنواع الثديات كالانسان والحيوان وبعض الطيور ، ولكن الانسان والكلاب هم الأكثر حساسية لهذا الفيروس .
القوباء البسيط فى الانسان	هربس سمبلكس Herpes simplex	تقرحات فى الأغشية المخاطية والعيون والجلد ويصيب الأطفال بصفة أساسية . وأحيانا ينتقل المرض أثناء الجماع من أشخاص مصابين فى الأعضاء التناسلية ، وقد تحدث وفيات نتيجة التهاب المخ .
القوباء الحلقى فى الانسان	هربس زوستر Herpex zoster	طفح جلدى متبثر يتحول الى ندبات غائرة ، ثم الى قشرة . وقد يحدث أعراض جلدية مؤلمة على الأعصاب والعقد العصبية ، وتحدث العدوى بالاحتكاك المباشر .
الجديرى أو الحماق فى الانسان	Varicella zoster	يظهر فى صورة طفح جلدى يتحول الى بثرات مائية . وهو أيضا من فيروسات القوباء (الهربس) .

تابع: جدول ٢ ـ ٤ : بعض الأمراض التى تسببها الأحياء الدقيقة حقيقية النواه وبدائية النواه والفيروسات للانسان والحيوان ومسبباتها واعراضها ...

المرض	الميكروب المسبب	بيانات خاصة
التهاب الأنف الرغامى البقرى المعدى (الأنف الأحمر)	IR Virus Infectious Bovine rhinotrachitis virus	تختلف الأعراض من حمى خفيفة الى التهاب حاد يشمل كل القناة التنفسية شاملة الجيوب الأنفية والبلعوم والحنجرة والقصبة الهوائية والتهاب الأغشية المخاطية المبطنة لها والتهاب رئوى واسهال مدمم ولا تتجاوز نسبة النفوق ٣٪ .
التهاب الأنف الرئوى فى الخيول (الاجهاض فى الخيول)	فيروس الالتهاب الأنفى الرئوى فى الخيول . Equire rhinotrachitis Abortion virus	يصيب الخيول حيث تحدث أعراض تنفسية وارتفاع فى درجة الحرارة واجهاض للأفراس الحوامل ، وهو من فيروسات القوباء .
التهاب الحنجرة الرغامى المعدى فى الطيور .	Infectious Laryngotrachitis virus	يصيب الطيور المختلفة فتظهر أعراض تنفسية حادة مع نسبة وفيات ونقص النمو ، والفيروس المسبب من فيروسات القوباء .
التهاب المخ الشوكى فى الحمام .	فيروس القوباء فى الحمام Pigeon herpes Encephalitis virus	أعراض صعبة ونسبة وفيات عالية . وهو من مجموعة فيروسات القوباء .
الجدرى فى الانسان	فيروس الجدرى Smallpox فيروس الفاكسينا Vaccinia	مرض فيروسى حاد يتميز بحدوث طفح عام على سطح الجلد بما فى ذلك الوجه والأطراف والبدن نفسه ، وتصل نسبة الموت الى حوالى ٥٪ .
الجدرى فى الجمال .	فيروس جدرى الجمال Camelpox virus	مرض غير حاد . ويتميز بحدوث طفح جلدى فى الجمال وخاصة فى المناطق الخالية من الشعر كالرأس .
الجدرى فى الأبقار	فيروس جدرى الأبقار . cowpox virus	ينتقل المرض عن طريق الحلابين أثناء عملية الحليب . ترتفع درجة حرارة الأبقار وتصبح الحلمات حساسة جدا وساخنة ومتورمة وتظهر بثرات حمراء على الحلمات والضرع . وقد تحدث تقيحات خارجية مختلفة ، ويسبب المرض خسائر كبيرة .

تابع: جدول ٢ـ٤ : بعض الأمراض التى تسببها الأحياء الدقيقة حقيقية النواه وبدائية النواه والفيروسات للانسان والحيوان ومسبباتها وأعراضها ...

المرض	الميكروب المسبب	بيانات خاصة
مرض الأورف . التهاب الجلد المتبثر السارى الفيروس فى الأغنام	فيروس مرض الأورف Orf virus	من فيروسات شبيهة الجدرى Parapox viruses وهو يصيب صغار الحملان والجديان القابلة للعدوى عند احتكاكها بقطعان مصابة ، وتبلغ نسبة النفوق ٥ - ٢٥٪ . وتتركز الاصابة فى المناطق الخالية من الشعر .
جدرى الضأن	فيروس جدرى الضأن Capripox virus	ينتج عنها ارتفاع فى درجة الحرارة وازدياد سرعة التنفس والتهابات حادة فى الجلد على شكل انتفاخات وأورام .. وتتكون بثرات ذات حواف ملتهبة (محتقنة) وغالبا ما يسبب نسبة نفوق عالية . الفيروس المسبب من فيروسات الجدرى .
جدرى الطيور	فيروس جدرى الطيور Avipox virus	تحدث الأعراض اما بظهور نتوءات جلدية تشبه العقيدات على العرف والدلايات وزوايا فتحة الفم وحول العيون والأقدام والساق للدجاج أو تكون مركزة فى الأغشية المخاطية للفم وفتحات التنفس والعيون ، وأحيانا يطلق عليه دفتيريا الدجاج .
الشلل الليمفاوى فى الدجاج (مرض الميرك)	Marek disease virus	تتحول الخلايا الليمفاوية الى التكاثر بطريقة سرطانية . وقد تتسلل الخلايا الليمفاوية السرطانية فى أنسجة الأعصاب الطرفية وتحدث شلل للجناح والأرجل . أو تتكون أورام ليمفاوية فى الكبد والطحال والكلية أو تحدث تغيرات فى العيون نتيجة وصول الخلايا السرطانية اليها فيفقد لون القزحية ويحدث العمى ، وهو من الفيروسات التى تكون مادتها الوراثية د ن أ .
سرطان الدم . سرطان اللحم فى الدجاج .	فيروس سرطان الدم Sarcoma virus أو سرطان اللحم فى الدجاج	يحدث كبر فى حجم بعض الطيور لتكون ورم فى الأحشاء وخاصة فى الكبد أو الطحال حيث يوجد عدد كبير من الخلايا الليمفاوية غير الكاملة . أو تضخم وكبر حجم العظام الطويلة للأطراف أو حدوث ضعف عام واحتقان العرف وأنيميا شديدة الى جانب وجود نسبة كبيرة من كرات الدم الحمراء البدائية أو تكون أورام حميدة أو خبيثة فى أماكن مختلفة . والفيروس المسبب من فيروسات محتوية على ر ن أ

تابع : جدول ٢ ـ ٤ : بعض الأمراض التي تسببها الأحياء الدقيقة حقيقية النواه وبدائية النواه والفيروسات للانسان والحيوان ومسبباتها وأعراضها ...

المرض	الميكروب المسبب	بيانات خاصة
السرطان فى الانسان	فيروس ابيستاين - بار Epstein-Barr virus	يسبب سرطان الخلايا الليمفاوية المعروف Burkitt lymphoma فى الانسان والقرود ، وكذلك ثبت أن هذا الفيروس يستطيع تحويل كرات الدم البيضاء الى خلايا سرطانية . وهو من الفيروسات المحتوية على د ن أ .
سرطان كرات الدم البيضاء فى الانسان	عدد من الفيروسات المحتوية على الحمض النووى ر ن أ	تسبب تحول كرات الدم البيضاء الى خلايا سرطانية .
نقص المناعة المكتسب (ايدز) فى الانسان .	فيروس لاف LAV أو فيروس اتش . تى - ال . فى ٣ HTLV III	وهو من الفيروسات المتراجعة (رترو) Retrovirus ينتشر هذا المرض بين الشواذ جنسيا (ممن يمارس عمل قوم لوط) وبين مدمنى المخدرات التى يتم تعاطيها بالحقن . ويتميز المرض بظاهرتين أساسيتين هى :- (١) ظهور التهابات بأحياء دقيقة انتهازية (أى أنها لا تصيب الا فاقدى المناعة) وأورام سرطانية نادرة مما يدل على ضعف أو فقدان مناعة المريض . (٢) ان المرض يحدث عند أشخاص كانوا يتمتعون بصحة جيدة ولم يسبق لهم تلاقى علاجات كيميائية ولم يكن لديهم أمراض أو أسباب أخرى لضعف المناعة . ويهاجم الفيروس خلايا ليمفاوية خاصة موجودة فى الدم والطحال تسمى تى ٤ ليمفوسايت T4 Lymphocytes . وتقضى عليها فيقل عددها فى الدم . ونظرا لأن هذه الخلايا هى العقل المدبر للجهاز المناعى فان مناعة الجسم تقل بالتدريج ويصبح الجسم عرضة للاصابة بالعديد من الأحياء الدقيقة .

جدول ٢ـ٥ : بعض الأمراض التى تسببها الأحياء الدقيقة للنباتات المختلفة .

المرض	الميكروب المسبب	بيانات خاصة
(١)	الأحياء الدقيقة	حقيقية النواه (الفطريات)
الجرب الأسود فى البطاطس	سينكيتريم أند وبيوتيكم Synchytorium endobioticum	تظهر على سيقان النباتات المصابة نموات خضراء مصفرة غير منتظمة الشكل بالقرب من سطح التربة ، وعند قلع الثمار فانه يظهر على الدرنات نموات غير محددة الشكل ، وتظهر الدرنات بشكل مشوه ، وقد تتعفن وتصبح داكنة اللون أو سوداء .
الجذر الصولجانى فى الكرنب .	بلازموديوفورا براسيكى Plasmodiophora brassicae	يصيب معظم نباتات العائلة الصليبية مثل الكرنب والقرنبيط والبروكلى واللفت والفجل وكرنب بروكسل حيث تتكون انتفاخات كروية أو مغزلية على الجذور أو على قاعدة الساق للنبات المصاب .
الجرب المسحوقى فى البطاطس	سبونجوسبورا سبترانى Spongospora subterranea	يصيب الأنسجة الخارجية من الدرنات ولا يتخلل للداخل بسبب تكوين طبقة من الفلين من أنسجة الثمرة لعزل الأنسجة السطحية المصابة عن باقى الثمرة فتتشوه الثمار .
الذبول الطرى للبادرات فى البطاطس	أنواع مختلفة تابعة لجنس بيثيم Pythium	تحدث الاصابة للبادرات وهى ما زالت تحت سطح التربة فتتعفن البذور وتموت البادرات . وقد تحدث الاصابة بعد ظهور البادرات فوق سطح التربة فتضمر السويقة الجنينية عند مستوى سطح التربة وتذبل وتموت .
اللفحة المتأخرة فى البطاطس	فيتوفثورا أنفستانز Phytophthora infestans	تظهر الاصابة على قمة وحواف الوريقات بشكل بقع مائية غير محددة ثم تتسع لتعم جميع أجزاء الوريقة . ويظهر على السطح السفلى للوريقات نمو زغبى أبيض عبارة عن الحوامل الأسبورانجية للفطر . يلى ذلك جفاف الوريقات وتلونها باللون البنى القاتم . وقد تظهر تقرحات بنية اللون على الساق أيضا تسبب جفاف الساق وتشققه طوليا ويصبح هشا سهل الكسر .

تابع : جدول ٢ـ٥ : بعض الأمراض التى تسببها الأحياء الدقيقة للنباتات المختلفة .

المرض	الميكروب المسبب	بيانات خاصـــــة
تصمغ أشجار الموالح .	فيتو فثورا سيتروفثورا Phytophthora citrophthora	يصيب المرض جذوع وجذور الأشجار وكذلك الثمار فتتصلب الجذوع وتتشقق رأسيا بشكل أشرطة طويلة مشبعة بافرازات صمغية . أما القلف الموجود تحت سطح التربة فانه يتعفن عادة . وفى الحالات الشديدة من الاصابة يؤدى المرض الى موت الشجرة وتصبح طرية ذات رائحة غير مقبولة .
الصدأ الأبيض فى الصليبيات	البوجوكانديدا Albugo candida	يصيب نباتات العائلة الصليبية كالفجل واللفت وغيرها Gruciferae والعائلة العلاقية والعائلة المركبة Compositae وتظهر الاصابة بشكل بثرات بيضاء ولامعة شمعية على السيقان والأوراق وأحيانا الثمار. وتتشوه الشماريخ الزهرية والثمار ويظهر الغزل الفطرى فى المسافات البينية لخلايا العائل .
البياض الزغبى Downy mildew فى العنب	بلازمو بارا فيتيكولا Plasmopora viticola	تظهر بقع صفراء غير منتظمة الشكل على السطح العلوى للأوراق يقابلها على السطح السفلى نمو زغبى أبيض أو رمادى اللون عبارة عن الحوامل الأسبورانجية . وقد تمتد الاصابة لتشمل أعناق الأوراق والثمار ثم تتحول الى اللون البنى وذلك لموت خلايا النبات . عندئذ تجف الأوراق وتسقط . وقد يموت النبات العائل اذا كان صغيرا أو كانت الاصابة شديدة .
البياض الزغبى فى الخس	بريميا لاكتوكى Brimia lactucae	تظهر بقع صفراء أو باهتة على السطح العلوى للأوراق السفلية القديمة يقابلها على السطح السفلى زغب أبيض أو رمادى . وتتسع البقع وتلتحم ثم تتحول الى اللون البنى . وقد تتقزم النباتات وتتلف بالكائنات الثانوية .

تابع: جدول ٢ ـ ٥ : بعض الأمراض التي تسببها الأحياء الدقيقة للنباتات المختلفة .

المرض	الميكروب المسبب	بيانات خاصة
البياض الزغبي في الذرة	سكليروسبورا جرامينيكولا *Sclerospora graminicola*	يظهر على السطح العلوى للأوراق بقع في صورة خطوط عريضة باهتة تحدها العروق المتوازية للأوراق يقابلها على السطح السفلى زغب رمادى اللون ، ويتغير لون الأنسجة المصابة فيصبح محمرا أو بنيا داكنا وتتمزق الورقة على طول الأنسجة المصابة الى شرائط طولية وتحمل النباتات نورات مشوهة عقيمة .
البياض الزغبي في البصل	بيرنوسبورا دستركتور *Peronospora destructor*	تظهر الاصابة على شكل بقع بيضاوية الشكل لونها أفتح من لون الورقة السليمة ، ويظهر نمو زغبى أبيض يتحول الى لون رمادى يميل الى البنفسجي ويبهت لون الأنسجة ويحدث الموت في مركز البقعة ثم تذبل الأوراق وتموت . وعند موت الأوراق الخارجية تمتد الاصابة للأوراق الداخلية حتى لا يبقى سوى الأوراق حديثة التكوين ، وينتج عن ذلك تقزم النبات وتصبح أنسجة البصل أسفنجية .
البياض الزغبي في الفول	بيرينوسبورا فيشيا *Peronospora Viciae*	تظهر بقع بنفسجية أو بنية غير محددة على السطح العلوى للأوراق يقابلها على السطح السفلى نمو زغبي
البياض الزغبي في الصليبيات	بيرنيوسبورا بارازيتيكا *Peronospora Parasitica*	يصيب معظم نباتات العائلة الصليبية مثل الكرنب والقرنبيط واللفت والفجل في المناطق الباردة الساحلية .
البياض الزغبي في القرعيات	بيرينيوسبورا كيوبنسيس *Peronospora cubensis*	يصيب أوراق نبات البطيخ والخيار وقرع الكوسة وغيرها . ولا تصاب به الثمار .
البياض الزغبي في السبانخ	بيرنيوسبورا ايفيوزا *Peronospora effusa*	أعراض شبيهة بأمراض البياض الزغبي السابقة الذكر .

تابع: جدول ٢-٥: بعض الأمراض التي تسببها الأحياء الدقيقة للنباتات المختلفة.

المرض	الميكروب المسبب	بيانات خاصة
البياض الزغبى فى البنجر	بيرنيو سبورا سكاكتياى P. schachtii	أعراض شبيهة بأمراض البياض الزغبى السابقة الذكر
مرض العفن فى البطاطا	رايزوبس ستولونيفر Rhizopus stolonifer	يظهر أثناء نقل وتخزين الثمار حيث يتكون عفن طرى لزج تنبعث منه رائحة خفيفة . ثم تفقد الثمار قوامها وتصبح طرية مائية كما يظهر نمو قطنى غزير رمادى اللون .
مرض الرشح فى الشليك	" "	ويظهر المرض عادة أثناء التسويق ، وأحيانا فى الحقل على هيئة عفن طرى مائى ويتغير لون الثمار الى البنى الفاتح وينمو الفطر نموا غزيرا حول الثمار المصابة مسببا فيها رشحا للعصير الثمرى .
مرض العفن الجاف فى لوز القطن	" "	ينشأ المرض عقب الاصابة بديدان اللوز حيث يغزو الفطر اللوز من خلال الثقوب التى تنشأ عن الحشرات . واذا حدثت الاصابة قبل النضج فان اللوز يجف ويصبح أسود اللون ولا يتفتح
عفن الثمار فى القرع	كونوفورا كيوكاربيتارم Choaneophora cucurbitorm	تحدث الاصابة أولا فى الأوراق الزهرية ثم تنتشر الى الطرف القمى للثمار الحديثة وتتجه بعد ذلك للطرف القاعدى وتتلون الأنسجة المصابة باللون البنى ثم يتكون نمو زغبى رمادى .
التجعد الورقى فى الخوخ	تافرينا ديفورمانس Taphrina deformans	تظهر مساحات بارزة على السطح العلوى للأوراق سريعا ما تمتد وتتجعد وتشمل معظم أو كل الورقة التى تصبح سميكة أو شحمية وتصبح باهتة أو صفراء اللون ثم تصبح حمراء داكنة فضية فى النهاية . وينتج عنها ضعف للأشجار ، وقد يؤدى الى الموت .

تابع: جدول ٢ـ٥ : بعض الأمراض التى تسببها الأحياء الدقيقة للنباتات المختلفة.

المرض	الميكروب المسبب	بيانات خاصة
العفن الرخو فى لوز القطن (ترميح اللوز)	أسبرجيلس نيجر Aspergilus niger	تلين أنسجة اللوز وتتعفن ويكون القطن الناتج منها عديم القيمة التجارية .
عفن ثمار العنب	أسبرجيلس نيجر Aspergilus niger	يتكون نمو أبيض كثيف عليه نقط سوداء صغيرة ، يعقب ذلك رشح الثمار وخروج العصارة منها . ويحدث هذا الفطر خسائر كبيرة أثناء تسويق العنب .
العفن الأزرق فى الموالح	بنسليوم ايتاليكام P. italicum	يحدث التلوث عن طريق الجروح التى تحدث فى الثمار أثناء القطف والتعبئة ، وتنتشر الاصابة من الثمار المصابة الى الثمار السليمة أثناء التخزين . وتصيب هذه الفطريات كل ثمار الموالح بلا استثناء فيظهر بقع طرية على قشرة الثمرة تكبر فى الحجم ثم يظهر ميسليوم أبيض اللون ثم تتكون بقع زرقاء أو رمادية فى وسط الميسليوم .
العفن الأخضر فى الموالح	بنسليوم ديجيتاتم P. digitatum	مثل السابق ، ولكن يكون مركز الميسيليوم أخضر فى النهاية نتيجة لتكوين الجراثيم الكونيدية الخضراء اللون .
العفن الأزرق فى ثمار التفاح	بنسليوم اكسبانسم P. expansum	يحدث المرض بكثرة فى الثمار المخزونة فتتكون على الثمرة منطقة مائية بنية صفراء تمتد لتشمل الثمرة كلها وتلين أنسجتها وتنبعث منها رائحة عفنة مميزة .
عفن كورمات الجلاديولس	بنسيليوم جلاديولى P. gladioli	تتكون مناطق غير منتظمة على الكورمات المصابة يصل قطرها الى ١,٥ سم وتصبح غائرة ذات لون بنى محمر ويغطى سطح البقعة بغشاء جلدى يوجد تحت الأجسام الحجرية للفطر وهى ذات لون أحمر باهت .

تابع: جدول ٢ـ٥ : بعض الأمراض التى تسببها الأحياء الدقيقة للنباتات المختلفة.

المرض	الميكروب المسبب	بيانات خاصة
البياض الدقيقى فى القرعيات	اريسيفى ميكوراسيرم *Erysiphe cichoracearum*	يصيب جميع نباتات العائلة القرعية وتظهر الأعراض على أنصال وأعناق الأوراق بشكل بقع دقيقية سطحية مستديرة لونها أبيض وتظهر البقع أولا على السطح السفلى ثم تنتشر الى السطح العلوى كما تظهر على السيقان والثمار الصغيرة وتنتشر لتغطى النبات كله . ثم تذبل الأوراق وتجف وتموت ولا تعقد الثمار . وقد تؤدى الاصابة الى موت النبات كله .
البياض الدقيقى فى البقوليات	اريسيفى بوليجونى *Erysiphe polygoni*	يصيب معظم النباتات البقولية كما يصيب أيضا نباتات الكرنب والقرنبيط واللفت والشمر . وتظهر البقع على السطوح العليا للأوراق أولا ثم تنتشر حتى تغطى النبات كله .
البياض الدقيقى فى النجيليات	أريسيفى جرامينس *Erysiphe graminis*	يصيب عددا من أفراد العائلة النجيلية كالقمح والشعير وغيرها وتظهر البقع الدقيقية على سطحى الأوراق بيضاء تمتد ثم تصبح بنية اللون فتصبح الأوراق باهتة أو صفراء . . ويظهر هالة حمراء عند مواضع الاصابة وتنتهى الاصابة بتقزم النبات وموت الأوراق وصغر السنابل .
البياض الدقيقى فى العنب	أنسينولا نيكاتور *Uncinula necator*	تظهر الاصابة على جميع سطح النبات فوق سطح التربة بشكل بقع دقيقية بيضاء لا تلبث أن تتسع لتشمل سطح النبات كله فتتجعد الأوراق وتجف وتتساقط وتصبح الأغصان باهتة ومتقزمة .
البياض الدقيقى فى الورد	سفيروثيكا بانوزا روزى *Sphaerotheca panosa var. rosae*	يصيب جميع أجزاء المجموع الخضرى للنبات فيظهر نمو دقيقى أبيض يتسع ليعم كل سطح النبات وتأخذ الأوراق اللون الأرجوانى ثم تجف وتسقط ويتغير لون البتلات ، وتكون عديمة القيمة التسويقية .

تابع: جدول ٢ـ٥ : بعض الأمراض التى تسببها الأحياء الدقيقة للنباتات المختلفة .

المرض	الميكروب المسبب	بيانات خاصة
البياض الدقيقى فى الخوخ	سفيروتيكا بانوزا برسيكى S. panosa var. persicae	تتكون بقع دقيقية تتسع لتشمل النبات كله ، وبتقدم الاصابة تصبح الأوراق داكنة اللون والثمار جلدية المظهر وتتشقق الثمار وتصبح غير صالحة للاستهلاك .
البياض الدقيقى فى المشمس Oxycanthae	بودوسفيرا أوكسيكانثى ترايداكتيلا Podosphaera var. tridacyla	تظهر بقع دقيقية على الأوراق تنتشر لتشمل معظم الورقة وتصبح الأوراق رمادية قاتمة ثم تلتوى وتجف وتسقط بعد ذلك ويقل المحصول بدرجة كبيرة .
البياض الدقيقى فى التفاح	P. leucotricha	تتكون البقع البيضاء على السطح السفلى للأوراق ثم تنتشر الى السطح العلوى ثم تتجعد الأوراق ويصبح لونها أرجوانى فاتح ، وأخيرا تذبل وتسقط . تتكون ثمار صغيرة تتشقق وتصبح مشوهة ذات سطح خشن .
البياض الدقيقى فى المانجو	أويديم مانجفرى Odium mangiferae	تظهر الأعراض على شكل بقع دقيقية تنتشر على الأوراق الحديثة والأغصان الطرفية والشماريخ الزهرية والثمار ويتحول لون البقع الى الرمادى ثم الى اللون البنى بعد ذلك وتصبح الثمار مشوهة وعديمة القيمة الاقتصادية .
البياض الدقيقى فى الخرشوف	ليفليولا توريكا Leveillula taurica	يصيب العديد من النباتات مثل الخرشوف والفلفل والباذنجان والطماطم والبطاطس والبصل والتيل والجوت وأبوخنجر وغيرها ، ويصيب جميع الأجزاء الخضرية للنبات ويسبب ضعف النبات وقلة الانتاج .

تابع: جدول ٢-٥ : بعض الأمراض التى تسببها الأحياء الدقيقة للنباتات المختلفة .

المرض	الميكروب المسبب	بيانات خاصة
جرب الكمثرى	فنتوريا بيرينا Venturia pirina	تتكون بقع على سطحى الورقة ذات لون أخضر زيتونى قاتم تتحدب على السطح العلوى وتتمعج على السطح السفلى للورقة ثم تصبح البقع فلينية ذو لون بنى ، وقد تتساقط الأوراق وتصاب المحيطات الزهرية فتتشوه الثمار وتقل وتتعرض للاصابة الثانوية بالعفن .
جرب التفاح	فنتوريا اينكواليس Venturia inaequalis	مثل مرض الكمثرى
مرض الأرجوت	كلافيسبس بوربوريا Clavicaps purpurea	لا يسبب خسائر كبيرة فى محصول الشيلم Rye ولكنه ينتج أجسام حجرية سامة ، وعند اختلاطها بالحبوب التى تستعمل كغذاء للانسان ، فان الانسان يصاب بأضرار صحية كبيرة وتحدث حالات تسمم وموت ، وهذا المرض يصيب نباتات نجيلية أخرى كالقمح والشعير وغيرها .
مرض سكليرو - تينيا فى الخضر	سكليروتينيا سكليروتيورم Sclerotinia selerotiorum	يحدث ذبول طرى للشتلات أو النباتات عند اصابتها على حد سواء . كما يهاجم الفطر الثمار ويسبب عفنا طريا فيها . وهذا المرض يصيب العديد من الخضروات كالكرنب والقرنبيط والكرفس والخس والقرع والبطيخ والباذنجان والبطاطس ، والطماطم والخرشوف والبسلة والبامية وغيرها ، ويسبب خسائر كبيرة فى محاصيل الخضر .
صدأ الفول	يورميسز فابى Uromyces fabae	تظهر الاصابة بظهور بثرات بنية على سطحى الأوراق تمتد الى السيقان ، وقد تؤدى شدة الاصابة الى تساقط الأوراق وتقزم النباتات ونقص فى المحصول .

تابع: جدول ٢ ـ ٥ : بعض الأمراض التى تسببها الأحياء الدقيقة للنباتات المختلفة .

المرض	الميكروب المسبب	بيانات خاصة
صدأ الساق الأسود فى القمح	باكسينيا جرامينيس تريتيساى Puccinia graminis tritici	تظهر البثرات على الأوراق وأغمادها والسيقان وقنابع الأزهار ، والبثرات بنية محمرة . وفى آخر الموسم تكون البثرات سوداء اللون ويقل المحصول .
الصدأ الأصفر (الصدأ المخطط) فى القمح	باكسينيا سترايبيفورمز Puccinia striiformis	تتكون بثرات صفراء على أنصال وأغماد الأوراق مرتبة فى صفوف متوازية ومتجاورة وتتحول الى اللون البنى قرب نهاية الموسم ، ويكون ملمسها ناعما ومغطاة ببشرة العائل فيسهل تمييزها عن صدأ الساق الأسود الخشنة الملمس .
الصدأ البرتقالى فى القمح	باكسينيا ريكونديتا تريتيساى P. recondita tritici	تتكون بثرات دائرية أو بيضاوية برتقالية اللون تنتشر دون انتظام على أنصال وأغماد الأوراق المصابة يتحول لونها الى بنى داكن مائل للسواد قرب نهاية الموسم وتكون ذات ملمس ناعم .
الصدأ البنى فى الشعير	باكسينيا هوردای P. hordei	تتكون بثرات بنية مصفرة صغيرة دون نظام على سطحى الورقة ثم تظهر البثرات السوداء فى نهاية الموسم على شكل قشور دائرية على أنصال الأوراق وبيضاوية أو مستطيلة على أغماد الأوراق والسيقان .
صدأ الذرة الشامية	باكسينيا سورجاى P. sorghi	تتكون بثرات بنية اللون على سطحى الأوراق تتحول الى الاسمرار فى نهاية الموسم وتصفر الأوراق وجفاف جزء من الأوراق يؤدى الى تجعدها وعدم انتظام شكلها .
صدأ البصل والثوم	باكسينيا بورى P. purri	تتكون بثرات صفراء اللون على الأوراق وحوامل النورات وتؤدى الاصابة الشديدة الى اصفرار الأوراق وجفافها فى دور مبكر مما يؤدى الى تكوين أبصال صغيرة وينتج عن ذلك نقص كبير فى المحصول .

تابع: جدول ٢ ـ ٥ : بعض الأمراض التى تسببها الأحياء الدقيقة للنباتات المختلفة .

بيانات خاصة	الميكروب المسبب	المرض
تتبقع الأوراق ببقع صفراء أو بنية مسحوقية المظهر وتؤدى شدة الاصابة الى تساقط الأوراق ونقص المحصول .	ترانزشيليا د يسكولور Tranzschelia discolor	صدأ الحلويات
تظهر البثرات الصفراء الصغيرة على الأسطح السفلية للأوراق . ثم يتغير لونها تدريجيا الى الأحمر . وعند انفجار البثرات فانها تأخذ شكلا مسحوقيا يتحول الى الأسود .	فراجميديم ماكروناتم Phragmidium mucronatum	صدأ الورد
تظهر النباتات المصابة أقل طولا وتميل أوراقها الى الاصفرار وتكون السنابل خالية من الحبوب والأجزاء الزهرية الأخرى . . ولا يبقى من السنبلة الا المحور الوسطى لها ويغطيه مسحوق أسود ، وقد تظهر بعض البثرات فى خطوط طولية على الأوراق الملامسة للسنابل المصابة .	يوستيلاجو نيودا Ustilago nuda	التفحم السائب فى القمح والشعير
عند ظهور السنابل وانطلاقها من أغمادها تظهر السنابل المصابة ضامرة وقصيرة وضعيفة التكوين وتتميز بلونها الرمادى القاتم الذى يميل للسواد . ولا يتلف الطفيل كل السنابل أو حتى جميع أجزاء السنبلة الواحدة .	يوستيلاجو هوردای Ustilago hordi	التفحم المغطى فى الشعير والشوفان .
تتكون أورام تفحمية غير منتظمة ومختلفة الأشكال والأحجام على الأجزاء المختلفة من النبات المصاب، ويكثر ظهورها على البراعم الإبطية والكيزان والنورات المذكرة ، وتغطى الأورام فى المبدأ بغلاف جلدى أبيض لامع من أنسجة النبات العائل ثم ينمزق بتضخم الأورام فينتشر الفطر على هيئة جراثيم مسحوقية لونها بنى داكنة .	يوستيلاجو مايديز Ustilago maydis	التفحم العادى فى الذرة الشامية

تابع: جدول ٢-٥ : بعض الأمراض التى تسببها الأحياء الدقيقة للنباتات المختلفة .

المرض	الميكروب المسبب	بيانات خاصة
التفحم اللواقى فى القمح	يوروستس أجروبيرى Urocystis agropyri	تظهر بثرات تفحمية على الأوراق وأغمادها ، وأحيانا على السيقان . وينتج عن الاصابة التفاف أنصال الأوراق والتوائها وذبولها . وتؤدى الاصابة الى تقزم وضعف النبات ، ولا تتكون السنابل ، واذا تكونت تكون خالية من الحبوب .
تفحم البصل	يوروستس كابولا Urocystis capulae	تظهر بثرات صغيرة طولية منتفخة قليلا رمادية الى سوداء على الأوراق الفلقية والخضرية . عند انفجار البثرات تظهر كتلة سوداء رمادية ، وقد يمتد المرض للداخل فتموت البادرات المصابة ، أما النباتات التى تقاوم المرض فتكون أبصالا صغيرة فى الحجم تظهر عليها بثرات التفحم .
خناق القطن	بيلليكيولاريا فيلامنتوزا Pellicularia filamentosa	اذا أصيبت به البذور قبل انباتها فانها تموت قبل ظهورها فوق سطح التربة ، واذا تأخرت الاصابة الى ما بعد ظهور البادرات يهاجمها الفطر عند منطقة السويقة الجنينية السفلى عند مستوى سطح التربة وتظهر ندب يميل لونها للاحمرار . ويسبب هذا المرض خسائر كبيرة فى محصول القطن .
عفن قواعد الأشجار	جانودرما لوسيدم Ganoderma locidum	تصاب به الأشجار الخشبية والكتل الخشبية الناتجة منها وينتج تلف كبير فى الأخشاب . والفطر يهاجم الأشجار بالقرب من سطح التربة . وتؤدى الاصابة فى الموالح نقصا كبيرا فى محصول الأشجار وتتحول الأوراق الى اللون الباهت . . أو الأصفر ، وقد تؤدى الاصابة الى موت الأشجار .
عفن الجذور الارميللارى	أرميللاريا ميلليا Armillaria mellea	وفيها يكمن الفطر داخل التربة ويهاجم كثير من الأشجار الخشبية وأشجار الفاكهة مسببا عفن الجذور وضعفا عاما فى الأشجار . كما يصيب الفطر بعض النباتات الحولية كالبطاطس والشليك وغيرها .

تابع : جدول ٢ ـ ٥ : بعض الأمراض التي تسببها الأحياء الدقيقة للنباتات المختلفة .

المرض	الميكروب المسبب	بيانات خاصة
العفن الديبلودي أو عفن جاوة الأسود في البطاطا	ديبلوديا تيوبريكولا Diplodia tubaricola	تظهر بثرات على الجذور المصابة ويتغير لون الأنسجة الداخلية فتصبح بنية داكنة تتحول للأسود ثم تجف الأنسجة المصابة وتصبح مجعدة ، ويسبب المرض خسائر كبيرة في محصول البطاطا قبل الجني وأثناء التخزين .
العفن الديبلودي في الموز	ديبلوديا ميوزي Diplodia musae	وهو يسبب خسائر كبيرة في الموز أثناء الانضاج الصناعي وكذا أثناء التسويق فيحدث عفن طري للثمار مصحوبا برائحة غير مرغوبة .
الانثراكنوز في الموز	جلويوسبوريم ميوزارم Gloeosporium musarum	تحدث العدوى ـ غالبا ـ في الحقل أثناء نمو الثمار على الأشجار ولا تظهر أعراض ظاهرية واضحة الا بعد قطف الثمار وانضاجها حيث تظهر تبقعات سوداء في منطقة عنق الثمرة ، تمتد بعد ذلك خلال قاعدة الثمرة وفي كف الثمار ويسبب ذلك سهولة نزع الثمار من السباطة وتساقطها . وفي المراحل الأخيرة من المرض تظهر الجراثيم الكونيدية للفطر المسبب للمرض وهي ذات لون برتقالي يميل للاحمرار .
التبقع البني في الموز	بوترايتس فابي Botrytis fabae	تظهر بقع بنية محمرة مستديرة أو غير منتظمة على الأوراق وأعناقها والسيقان والقرون . وقد تصل الاصابة الى البذور وقد تتساقط الأوراق ويقل المحصول وقد تتحول البذور الى اللون الأسود .
عفن الرقبة في البصل	بوترايتس الياي Botrytis alii وبوترايتيس سبتوسبورا B.Septospora	وهذا المرض يصيب البصل بعد التقليع وأثناء الشحن والتخزين ،كما يصيب أيضا الثوم والكرات وغيرها . فتصبح الأبصال لينة ثم تتلون الأنسجة بلون يميل الى البني ويظهر بعد ذلك النمو الفطري الرمادي على الثمار .

تابع: جدول ٢ـ٥ : بعض الأمراض التى تسببها الأحياء الدقيقة للنباتات المختلفة.

المرض	الميكروب المسبب	بيانات خاصة
اللفحة فى الأرز	بيريكيولاريا أوريزى Piricularia oryzae	تظهر أعراض المرض على الأوراق والسيقان والمحور الأصلى للسنابل فتظهر بقع ذات لون شاحب أو أصفر باهت أو رمادى،ويتحول اللون بعد ذلك الى البنى الداكن ويسبب ضمور الحبوب وقلة الانتاج .
الذبول المتأخر أو شلل الذرة الشامية .	سيفالورسبوريم مايدز Caphalosporium maydis	تخطيط أصفر فى المسافات بين العروق والتفاف الأوراق الداخلية ثم ذبول الأوراق ، وكذلك تخطيط على السلاميات وانكماشها ثم تحلل داخلى وتصبح الحزم الوعائية ذات لون بنى محمر ، وقد تؤدى الاصابة الى عدم تكون الكيزان أو عدم تكون الحبوب
التبقع الالترنارى فى أوراق القطن	الترناريا تنويس Alternaria tanuis	تتكون بقع باهتة مستديرة أو غيرمنتظمة باهتة اللون تتسع ويدكن لون مركز البقع ، فيصبح أصفر أو بنى ،ويبدو وسط البقع جافا رقيقا . وقد تصاب أعناق الأوراق أو اللوز فلا يتفتح أو يظهر النمو القطرى الأسود على شعر القطن .
اللفحة المبكرة فى الطماطم والبطاطس	الترناريا سولانى Alternaria solani	يصيب بادرات الطماطم وينتج عنه تقرح أو تحليق المنطقة المصابة مما يؤدى الى موت البادرات ، وتظهر أعراض الاصابة أولا بشكل بقع بنية داكنة تتحول للون الأسود بعد أن تكبر وتظهر حلقات متداخلة محاطة بهالة صفراء ،وأخيرا تصفر الأوراق وتجف وتموت وتسقط مما يؤدى الى تعرض الطماطم الى لسعة الشمس وقلة المحصول . أما درنات البطاطس فتصاب بعفن جاف على هيئة بقع مستديرة داكنة ذات لون بنى محمر ، وقد تتشقق مناطق الاصابة فتحدث عدوى ثانوية .

تابع: جدول ٢–٥ : بعض الأمراض التي تسببها الأحياء الدقيقة للنباتات المختلفة .

المرض	الميكروب المسبب	بيانات خاصة
اللفحة الأرجوانية ومرض اللسعة في البصل	الترناريا بورى Alternaria Porri	تظهر بقع صغيرة على الأوراق وشمراخ النورة وأعناق البصلات وتتسع ويظهر حولها هالة صفراء . ثم يظهر على البقع نمو فطرى ويصبح لونها أسود . وتظهر أعراض اللسعة على البصل أثناء التسويق والتخزين حيث تجف البصلات عند قواعد الأوراق الشحمية .
التخطيط في الشعير	هلمينثوسبوريم جرامنيم . Helminthosporium graminum	يصيب المرض جميع أجزاء النبات حيث تظهر خطوط طويلة صفراء بطول الورقة ثم يتحول لون الخطوط من الأصفر الى البنى وتكون خطوط المرض مغطاة بنمو رمادى أسود اللون فتضمر الأوراق ويموت النبات .
تبقع الأوراق السركسبورى في البنجر	سركسبورا بتيكولا Cercospora baticola	تظهر الاصابة كبقع صغيرة مستديرة بنية اللون ذات حواف محددة تميل الى اللون البنفسجي المحمر ثم تتحول البقع الى اللون الرمادى وتؤدى الاصابة الى موت الأوراق وسقوطها ، وينتج عن ذلك صغر حجم الجذور الشحمية وانخفاض نسبة السكر فيها .
تبقع أوراق الفول السودانى	سركسبورا برسوناتا Cercospora Persopata	بقع بنية داكنة أو سوداء اللون على الأوراق والسيقان والقرون . وقد تؤدى شدة الاصابة الى تساقط الأوراق وضعف النبات وقلة المحصول .
ذبول الفيوزاريم في القطن	فيوزاريم أوكسيسبوريم Fusarium oxysporum	ذبول وعائى في القطن وظهور اصفرار شبكى أو برقشة شبكية على الأوراق الفلقية في البادرات . وتظهر النباتات المصابة ضعيفة النمو أقصر في الطول من النباتات السليمة ويكون لوزها أصغر حجما ويتفتح قبل تمام النضج ويسبب خسائر فادحة في محصول القطن .

تابع: جدول ٢ـ٥ : بعض الأمراض التي تسببها الأحياء الدقيقة للنباتات المختلفة.

المرض	الميكروب المسبب	بيانات خاصة
ذبول الفيوزاريم في الطماطم	فيوزاريم أوكسيسبوريم Fusarium Oxysporum F. lycopersici	يظهر شحوب في لون الأوراق ثم يتغير اللون الى الأصفر ثم تذبل الأوراق وتنحني وتجف وتموت. وتؤدي شدة الاصابة الى ضعف النباتات وتقزمها، وقد تموت مبكرا قبل نضج الثمار.
العفن الأبيض في البصل	سكليروشيم سبيفورم Sclerotium cepivorum	تصفر الأوراق وتذبل من أعلى الى أسفل ثم تموت مبتدئة بالأوراق الخارجية. وتتعفن قواعد الأبصال وجذور النباتات المصابة. ويؤدي المرض الى خسائر فادحة في المحصول.
العفن الفحمي في الذرة الشامية	سكليروشيم باتاتيكولا Sclerotium butaticola	يظهر عفن فحمي في أنسجة العقد والسلاميات القريبة من سطح التربة وأسفلها. ثم يمتد العفن الى أعلى وأسفل. ويسبب موت البادرات وكثيرا ما تكون الاصابة مصحوبة باصابات أخرى فيسبب خسائر كبيرة في المحصول الناتج.

تابع : جدول ١ ـ ٥ : بعض الأمراض التى تسببها الأحياء الدقيقة للنباتات المختلفة .

المرض	الميكروب المسبب	بيانات خاصة
(٢)	الأمراض الناتجة	عن الأحياء الدقيقة الخلوية حقيقية النواه
		(الطحالب والأشنات)
ريم الأرز	سبيرو جيرا Spirogyra	يظهر ريم أخضر أو بنى أو أزرق على سطح الماء يزاحم النباتات ويعوق نموها . وقد تحدث أضرار فسيولوجية نتيجة قلة الأكسجين الذائب فى الماء والضرورى لتنفس جذور النبات فتضعف النباتات ويقل المحصول .
الأشنات على أشجار الموالح والجلوبات وغيرها من أشجار الفاكهة	فطريات وطحالب مختلفة	تتكافل الفطريات والطحالب فيما يعرف باسم الأشن ، والذى ينمو على الأشجار فيسد الثغور والعديسات ويحجب ضوء الشمس والهواء عن بشرة النبات . وقد تزيد كمية الأشن على أفرع الأشجار مما يؤدى الى كسر بعض الفروع .
(٣)	الأمراض الناتجة	عن الأحياء الدقيقة الخلوية بدائية النواه (البكتيريا)
العفن البنى فى البطاطس	سودوموناس سولا ناسيريم Pseudomonas solanacearum	يصيب المرض البطاطس فى المناطق الحارة ونصف الحارة ، ويسمى أحيانا بالذبول البكتيرى أو المرض المخاطى ، وفيه تذبل الأوراق مع اصفرار طفيف فى اللون ثم يظهر على الأوراق مناطق ذات لون بنى تمتد لتشمل الورقة كلها ثم تسقط بعد ذلك . والدرنات تحتوى على افرازات بكتيرية لزجة بيضاء أو بيضاء مصفرة ، وفى بعض الحالات تخرج هذه الافرازات من العيون على الدرنات المصابة .
تقرح الموالح .	زانثوموناس ستراى Xanthomonas citri	تظهر بقع بنية جافة محاطة بحواف بنية لامعة على أوراق وسوق وثمار الموالح .

تابع : جدول ٢ ـ ٥ : بعض الأمراض التى تسببها الأحياء الدقيقة للنباتات المختلفة .

المرض	الميكروب المسبب	بيانات خاصة
التبقع الزاوى فى القطن	زانثوموناس ـ مالفا سيرم . Xanthomonas malvacearum	شديد الخطورة على القطن فى المناطق الرطبة . فتصاب البادرات بتبقعات مستديرة ذات مظهر زيتى على الأوراق الفلقية وفى حالة شدة الاصابة تتساقط الأوراق وتموت البادرات . وهذا المرض يصيب النبات فى جميع مراحل نموه وينتج عنها اصفرار القطن ويضعف انتاجه .
الساق الأسود فى البطاطس	أروينيا أتروسبتيكا Erwinia atroseptica	يوجد هذا المرض فى جميع الأماكن التى يزرع بها البطاطس وتؤدى الاصابة الى تقزم النباتات ، وتصفر الأوراق وتلتف الى أعلى ، ويظهر عفن أخضر مسود على الساق وتذبل النباتات وتتعفن الدرنات .
اللفحة النارية فى التفاح والكمثرى .	أورينيا أميلو فورا Erwinia amylovora	تصيب هذه البكتيريا عديدا من النباتات وتسبب خسائر كبيرة لأشجار التفاح والكمثرى وغيرها . ويؤدى المرض الى قتل القلف والأوراق حديثة التكوين ، وقد تظهر الأعراض على الجذوع والفروع والجذور على صورة تقرحات حول قاعدة الفروع المصابة ، وعادة تنتج افرازات لزجة وتتحول الأنسجة تحتها الى اللون الأحمر مع ظهور تبرقش ثم يتحول لونها الى البنى فالأسود .
العفن الحلقى فى البطاطس	كورنيبكتيريم سبيدونيكم Corynebacterium sepedonicum	وهو مرض خطير يسبب خسارة كاملة لمحصول الدرنات المريضة . وتظهر الأعراض قرب نهاية موسم النمو فى صورة التفاف فى الأوراق ثم تعود لمظهرها الطبيعى ثم يتبع ذلك ذبول سريع . والدرنات المصابة اذا ضغطت باليد يخرج منها افرازات بيضاء لزجة .

تابع: جدول ٢ـ٥ : بعض الأمراض التى تسببها الأحياء الدقيقة للنباتات المختلفة .

المرض	الميكروب المسبب	بيانـــــات خاصــــــة
التدرن التاجى فى العنـــب والتفاح وغيرها	أجروباكتيريــم تيوميفيشيـنـس Agrobacterium tumefaciens	يظهر على جذور النباتات أوراما مختلفة الحجم فى منطقة التاج . وتتوقف صلابة الأورام على النبات العائـــل . فالأورام طرية على النباتات الحولية وصلبة على الأشجـار الخشبية ، والمرض ليس خطيرا على الأشجار الكبيرة ولكنه يسبب أضرارا واضحة على الشتلات .
أمراض بكتيريـة أخرى	باسيلس ميزنتريكس Bacillus mesentricus	تصيب أنواع عديدة من النباتات مثل درنات البطاطس ونباتات القرع العسلى وأوراق وثمار الخيار والفلفل .
	باسيلس ستلبس Bacillus subtilis	تصيب درنات البطاطس وثمار الكتان وتعمل على تعفنها وتلون أوراق وثمار المشمش باللون البنى .
الجرب العادى فى البطاطس	ستربتومايسيز سكابيز Streptomyces scabies	تظهر على الدرنات بثرات خشنة منفرة مستديرة أو غيـر منتظمة وتتكون أنسجة فلينية فى الأماكن المصابة وفـى الاصابات المتقدمة تتشقق الثمار وتصبح عرضة للاصابـة الثانوية بالحشرات .
(٤) الأمراض الناتجة عن الأحياء الدقيقة الغير خلوية (الفيروســـــات)		
التبرقش المجعد على نباتـــات البطاطـــس	فيروســـــات البطاطـــس اكس - واى - ايه Potato viruses X, Y, A	بقع خضراء أو صفراء أو تبرقش على الأوراق ، وقـــد يحدث تنخر أو تخطيط على الأوراق وتجعدها وتتكـــون نباتات متقزمة وأوراق ذات سطح خشن ويضعف الســـاق وتعطى النباتات المصابة محصولا ضئيلا وتكون الدرنـات صغيرة الحجم وتنتقل العدوى عن طريق التقاوى المصابـة والحشرات .
التفاف أوراق البطاطـــس	فيروس التفـاف أوراق البطاطس Potato Leaf Roll Virus	تلتف الأوراق الى أعلى مع تلون الوريقات باللون القرمزى . وتصبح الأوراق الملتفة سميكة وجافة وسهلة الكسر نظـــرا لامتلائها بالنشا . وتتقزم النباتات وتقصر السلاميـــات ويصبح لون الأوراق بنى والنباتات المصابة تنتج درنـــات صغيرة قليلة العدد كما يحدث تنخر فى درنات بعـــض الأصناف .

تابع: جدول ٢ـ٥ : بعض الأمراض التى تسببها الأحياء الدقيقة للنباتات المختلفة .

المرض	الميكروب المسبب	بيانات خاصة
تبرقش الطماطم	فيروس تبرقش الطماطم Tomato mosaic virus (TMV)	يصيب الفيروس عدد كبير من النباتات فى عوائل نباتية عديدة أهمها نباتات العائلة الباذنجانية كالطماطم والفلفل وغيرها ، وتكون الاصابة شديدة بصفة خاصة فى البيوت المحمية فتتبرقش الأوراق وتتقزم النباتات وتظهر بقع خضراء باهتة أو صفراء ويقل المحصول الناتج وينتقل الفيروس بالطرق الميكانيكية عن طريق العمال والشتلات وكذلك عن طريق البذور المصابة .
الذبول المبقع فى الطماطم	فيروس الذبول المبقع فى الطماطم Tomato spotted Wilt virus (TSMV)	يصيب الفيروس عدد كبير من العوائل النباتية ، اذ وجد على ١٦٦ نوعا من النباتات تتبع ٣٤ عائلة نباتية مختلفة وهو يصيب عوائل نباتية اقتصادية مثل الخس والطماطم والبطاطس والدخان والأناناس وكثير من نباتات الزينة . ويحدث تبقع أصفر وتتقزم النباتات المصابة وفى الطماطم ينتشر لون برونزى على الأوراق يسمى الذبول البرونزى Bronzy wilt . أما أزهار الزينة فتتشوه كما فى أزهار الداليا والزينيا وينتقل الفيروس بالحشرات . . أو بالنقل الميكانيكى أو بالبذور المصابة .
تجعد الأوراق الأصفر فى الطماطم	فيروس تجعد الأوراق الأصفر فى الطماطم Tomato Yellow Leaf Curl Virus (TYLCV)	يصيب الفيروس عدد قليل من نباتات العائلة الباذنجانية كالطماطم والفلفل والدخان وغيرها . فتتبقع الأوراق ويكون حجمها صغيرا وتكون الوريقات خشنة وسميكة ، ويتجعد النصل وتكون النباتات متقزمة ويتكون عدد قليل من الأزهار ويكون حجم الثمار صغير وعددها قليل .
تبرقش الكوسة	فيروس تبرقش الكوسة Squash Mosaic Virus (SMV)	تصيب فيروسات التبرقش نباتات عديدة كالكوسة والخيار والبطيخ والفاصوليا واللوبيا والخس وغيرها . وتسبب خسائر فادحة فى محاصيل الخضر . وتختلف الأعراض من ظهور بقع خضراء باهتة الى صفراء . وقد يحدث تخطيط وتقزم للنباتات وتتكون أزهار قليلة وتنتج ثمار صغيرة وعددها قليل مما يؤدى انخفاض
تبرقش الخيار	فيروس تبرقش الخيار Cucumber Mosaic Virus (CMV)	
تبرقش البطيخ	فيروس تبرقش البطيخ Watermelon Mosaic Virus (WMV)	

تابع: جدول ٢ـ٥ : بعض الأمراض التي تسببها الأحياء الدقيقة للنباتات المختلفة.

المرض	الميكروب المسبب	بيانات خاصة
تبرقش الفاصوليا	فيروس تبرقش الفاصوليا العادى Bean Common Mosaic Viruses (BCMV)	المحصول . وتنتقل هذه الفيروسات عن طريق الحشرات أو النقل الميكانيكى أو البذور المصابة وغيرها .
تبرقش اللوبيا	فيروس تبرقش اللوبيا Cowpea Mosaic virus (CMV)	
تبرقش الخس	فيروس تبرقش الخس Lettuce Mosaic Virus (LMV)	
التواء أوراق القطن	فيروس التواء أوراق القطن Cotton Leaf Curl Virus (CLCV)	تتضخم العروق الوسطية للأوراق وتكون الأوراق صغيرة الحجم ، تتجعد كلما كبرت وتتلوى حوافها الى أعلى أو الى أسفل وتتميز الأجزاء المصابة من النبات بالضعف وقلة اللوز وصغر حجمه ووزنه وقلة المحصول الناتج . وينتقل المرض بالطرق الميكانيكية والحشرات .
أمراض القمح الفيروسية	فيروسات القمح والحبوب الأخرى	تصيب القمح فيروسات عديدة كالتبرقش ، والتبرقش المخطط والتبرقش المتقزم والتخطيط وغيرها من الأمراض ، وهذه الأمراض تسبب خسائر كبيرة فى محصول القمح ومحاصيل أخرى هامة كالشعير والذرة والأرز وغيرها وتتشابه أحيانا فى أعراضها وتنتقل بالطرق المختلفة كالطرق الميكانيكية والحبوب والتربة وغيرها .
تبرقش قصب السكر	فيروس تبرقش قصب السكر Sugar Cane Mosaic Virus (SCMV)	تظهر بقع فاتحة اللون أو شاحبة على أوراق النباتات المصابة قد يؤدى الى موت الأنسجة فتظهر مناطق متقرحة . وتنتج عقل صغيرة بها أجزاء داخلية ملونة وينتقل المرض بالطرق الميكانيكية والحشرات والتقاوى .

تابع: جدول ٢ ـ ٥ : بعض الأمراض التي تسببها الأحياء الدقيقة للنباتات المختلفة .

المرض	الميكروب المسبب	بيانات خاصة
التخطيط الشاحب بقصب السكر	فيروس التخطيط الشاحب بقصب السكر Sugar Cane Chlorotic Streak virus (SCCSV)	تظهر خطوط صفراء باهتة على الأوراق وتتكون أجسام اكس فى داخل أنسجة خلايا الساق المصابة . وينتقل المرض بواسطة الحشرات وبالنقل الميكانيكى وعن طريق العقل .
تبرقش البرسيم الحجازى	فيروس تبرقش البرسيم الحجازى Alfalfa Mosaic Virus (AIMV)	يصيب الفيروس العديد من النباتات التابعة لنحو ٤٧ عائلة نباتية مختلفة ويسبب أعراض مختلفة على هذه العوائل ولكن أهمها هو التبرقش . وقد تؤدى شدة الاصابة الى موت النبات ، وينتشر المرض عن طريق البذور المصابة والحشرات والنقل الميكانيكى والحامول .
القوباء فى الموالح	فيروس قوباء الموالح Citrus psorosis virus (CPsV)	ويسمى أيضا مرض القلف المتقشر وينتشر هذا المرض فى معظم البلاد التى تزرع الموالح ، والفيروس المسبب له عدة سلالات تسبب أعراضا مختلفة وأهمها تكون بثرات على جذوع الأشجار تكون مصحوبة بافرازات صمغية تخرج من ثقوب صغيرة فى القلف .
التدهور السريع فى الموالح (التريستيزا)	فيروس التدهور السريع فى الموالح Citrus Quick Decline Virus (CQDV)	يتوقف نمو شجرة البرتقال المطعومة على نارنج ويتحول لون أوراقها الى أخضر رمادى وتأخذ عروقها اللون الأصفر ثم تتساقط أوراقها وتأخذ الشجرة شكلا كئيبا ثم تموت الشجرة خلال عدة أسابيع ، وتصل الشجرة الى هذه الحالة فى مدة ٢ ـ ٥ سنة من وقت حدوث العدوى . وكل الموالح المطعومة على نارنج تصاب بهذا المرض .

تابع: جدول ٢ـ٥ : بعض الأمراض التى تسببها الأحياء الدقيقة للنباتات المختلفة ·

المرض	الميكروب المسبب	بيانات خاصة
الورقة المروحية فى العنب	فيروس الورقة المروحية فى العنب Grape Vine Fan Leaf Virus (GVFLV)	تتوقف السلاميات المصابة عن الاستطالة ويظهر النمو متعرجا عند العقد . أما الأوراق فتبقى قائمة وتكون عروقها الرئيسية متجمعة حول العرق الوسطى مكونة ما يشبه المروحة الورقية ، والنباتات المصابة لا يتكون عليها ثمار أو تتكون ثمار قليلة خالية من البذور وينتقل المرض بواسطة النقل الميكانيكى والنيماتودا والبذور المصابة .
تبرقش التفاح	فيروس تبرقش التفاح Apple Mosaic Virus (APMV)	يصيب الفيروس التفاح والبرقوق والورد وحشيشة الدينار وغيرها ، حيث يسبب التبرقش أو تكون خطوط مصفرة وحلقات . وأضرار هذا المرض عادة بسيطة ، وان وجدت سلالات فيروسية شديدة الفتك بالعائل .
تورد القمة فى الموز	فيروس تورد القمة فى الموز Banana Bunchy Top Virus (BBTV)	تظهر الأعراض على شكل بقع أو نقط خضراء قاتمة على العروق الوسطية أو الأوراق . تتصل هذه النقط لتكون خطوطا فيما بعد . والأوراق حديثة التكوين تكون صفراء اللون لا تلبث أن تجف ويسهل كسرها ، وعند شدة المرض تتجمع الأوراق عند القمة ويصبح شكلها كالوردة والنباتات المصابة لا تثمر عادة أو تعطى ثمار صغيرة ضامرة عديمة القيمة وينتقل بواسطة الحشرات .

الفصل الثالث
طرق دراسة الأحياء الدقيقة

نظرا لصغر حجم الكائنات الدقيقة فان المعلومات التي يمكن الحصول عليها من دراسة كل كائن حي (منفرد Individual) تعتبر محدودة ، لذلك فان علماء الأحياء الدقيقة يميلون لدراسة مجتمعات Populations تحتوى على ملايين أو بلايين الأفراد من الأحياء الدقيقة . ويمكن الحصول على تلك المجتمعات بتنمية الأحياء الدقيقة تحت ظروف محددة الى حد ما تسمى المزارع Cultures (ومفردها مزرعة Culture) والمزرعة التي تحتوى على نوع واحد من الأحياء الدقيقة تسمى مزرعة نقية Pure or axenic culture . أما المزرعة التي تحتوى على أكثر من نوع واحد من الأحياء الدقيقة فتسمى مزرعة مختلطة Mixed culture . أما اذا احتوت المزرعة على نوعين حفظا عن قصد سويا نظرا لتعاونهما معا أو لاعتماد أحدهما في معيشته على الثاني فتعرف باسم المزرعة المزدوجة أو مزرعة الفردين Two membered culture.

ولا شك أن أساس دراسة الأحياء الدقيقة يقع على عمليتين أساسيتين وهما :

١ـ العزل Isolation

وهو فصل كائن حي دقيق بعينه من وسط مجتمع مختلط من أحياء دقيقة مختلفة موجودة في الطبيعة .

٢ـ التزريع: Cultivation

وهو تنمية المجتمعات الميكروبية تحت ظروف المختبرات في أوساط (مستنبتات) صناعية Artificial media تسمى culture media وسنطلق عليها هنا اسم مستنبتات مزرعية (ومفردها مستنبت مزرعي

Culture medium) وان كانت كثير من المراجع العربية استخدمت مجازا كلمة بيئة للتعبير عن المستنبت Medium ولكننا هنا سنقصر استخدام كلمة بيئة على ما هو معروف فى اللغة الانجليزية باسم Environment منعا للالتباس الذى قد يقع فيه الطالب المبتدئ .

هاتان العمليتان (العزل والتزريع) تلعبان دورا هاما فى دراسة جميع الأحياء الدقيقة بغض النظر عن نوعيتها مثل الفيروسات - البكتيريا - الطحالب - الفطريات - البروتوزوا وأيضا لدراسة اللافقاريات الصغيرة . وأكثر من ذلك فقد امتد استخدام هاتان العمليتان (العزل والتزريع) فى السنوات الحديثة لدراسة الخلايا والأنسجة فى الحيوانات والنباتات الراقية (عرفت هذه الدراسة باسم مزارع الأنسجة Tissue Cultures).وترجع وحدة علم الأحياء الدقيقة Microbiology رغم اختلاف الكائنات التى يشمل دراستها هذا العلم الى وحدة الأساس العام لدراسة هذه الأحياء .

طرق الحصول على مزارع الأحياء الدقيقة النقية

ان الحصول على المزارع النقية للأحياء الدقيقة لا يشمل العزل فقط لكائن ما ، بل أيضا ضرورة الاحتفاظ بهذا الكائن وذريته Progeny معزولا دون تلوث Contamination على مستنبت ... وحيث أن الأحياء الدقيقة لا تتطلب مكانا كبيرا لنموها فانه يمكن حفظ المستنبتات فى أنبوبة اختبار أو دورق أو طبق بترى Petri dish . وهذه هى أكثر الأشياء شيوعا لتزريع الأحياء الدقيقة . ويجب تعقيم أى وعاء قبل استخدامه لتزريع أحياء دقيقة . وكلمة تعقيم تعنى ازالة أو قتل جميع الأحياء الدقيقة الملوثة . وبعد تزريع الأحياء الدقيقة المرغوبة فمن الضرورى حمايتها من التلوث بأى أحياء خارجية أخرى . والمصدر الأول لتلوث أى مزرعة هو الهواء المحيط الذى يحتوى على العديد من الأحياء الدقيقة .

ولقد صمم طبق بترى ذو الغطاء الذى يحيط بالطبق من جميع جوانبه ـ بصفة خاصة للحماية من التلوث بالأحياء الموجودة فى الهواء الجوى ، أما تلوث المزارع فى الأنابيب والدوارق فيتم تجنبه باستخدام سدادات خاصة مثل سدادات القطن الشائعة الاستعمال ، ولوأنه حاليا تستخدم أغطية بلاستيكية أو معدنية وخاصة لأنابيب الاختبار .

السطح الخارجى للوعاء المحتوى على المزارع النقية يكون معرض للتلوث بالطبع . وكذلك يمكن تلوث داخل الوعاء عند ازالة الغطاء لاضافة أو سحب بعض مكوناته . ويمكن تقليل الخطر الناجم عن فتح الأنبوبة أو الدورق بامرار فتحته ـ بعد فتحه مباشرة ـ فى اللهب ، ثم اعادة امرار هذه الفتحة فى اللهب ثانية قبل اعادة الغطاء الى مكانه . أما أطباق بترى فيجب فتحها بحذر بالقرب من لهب .

تستخدم ابر حقن خاصة اما مستقيمه Straight أو ذات عقدة Loop من سلك معدنى ـ وهى سهلة التعقيم بالتسخين الى الاحمرار فى اللهب المباشر ـ لنقل مزارع الأحياء الدقيقة . وتسمى الأحياء الدقيقة المستخدمة لحقن أو تلقيح مستنبت جديد لتكوين مزرعة جديدة باسم " لمسة تلقيح Inoculum " . ويمكن تقليل خطر التلوث أثناء النقل باجراء عمليات النقل هذه داخل غرف صغيرة مغلقة خالية من التيارات الهوائية أو باستخدام خزانات Hood أمان خاصة .

أولاً : عزل المزارع النقية باستخدام المستنبتات الصلبة على الأطباق

يمكن الحصول على مزارع نقية للأحياء الدقيقة التى تكون مستعمرات Colonies على المستنبتات الصلبة (مثل معظم البكتيريا والخمائر والعديد من الفطريات والطحالب) باستخدام احدى طرق العزل على الأطباق . وتشمل هذه الطرق فصل الخلايا الفردية عن بعضها والسماح لها بالنمو على سطح مستنبت صلب معقم يحتوى على العناصر الغذائية اللازمة لنمو هذه الخلايا الفردية . وكل خلية تنمو تعطى

العديد من الخلايا كلها فى مكان واحد تسمى مستعمرة Colony .
ويمكن استخدام هذه المستعمرات المعزولة (المنفصلة) عن باقى المستعمرات لتلقيح مستنبت جديد . ويجرى تصليب المستنبت عادة باستخدام مواد خاصة مثل الآجار او الجيلاتين .

١ـ الأطباق المخططة Streaked Plates

تعتبر طريقة الأطباق المخطوطة (أو تخطيط الأطباق) أكثر الطرق نجاحا فى عزل الكائنات الدقيقة . حيث يسمح لابرة التلقيح الملتوية Loop المعقمة بلمس مزرعة نقية أو بغمسها فى معلق للأحياء الدقيقة . ثم عمل خطوط باحدى الطرق الآتية :

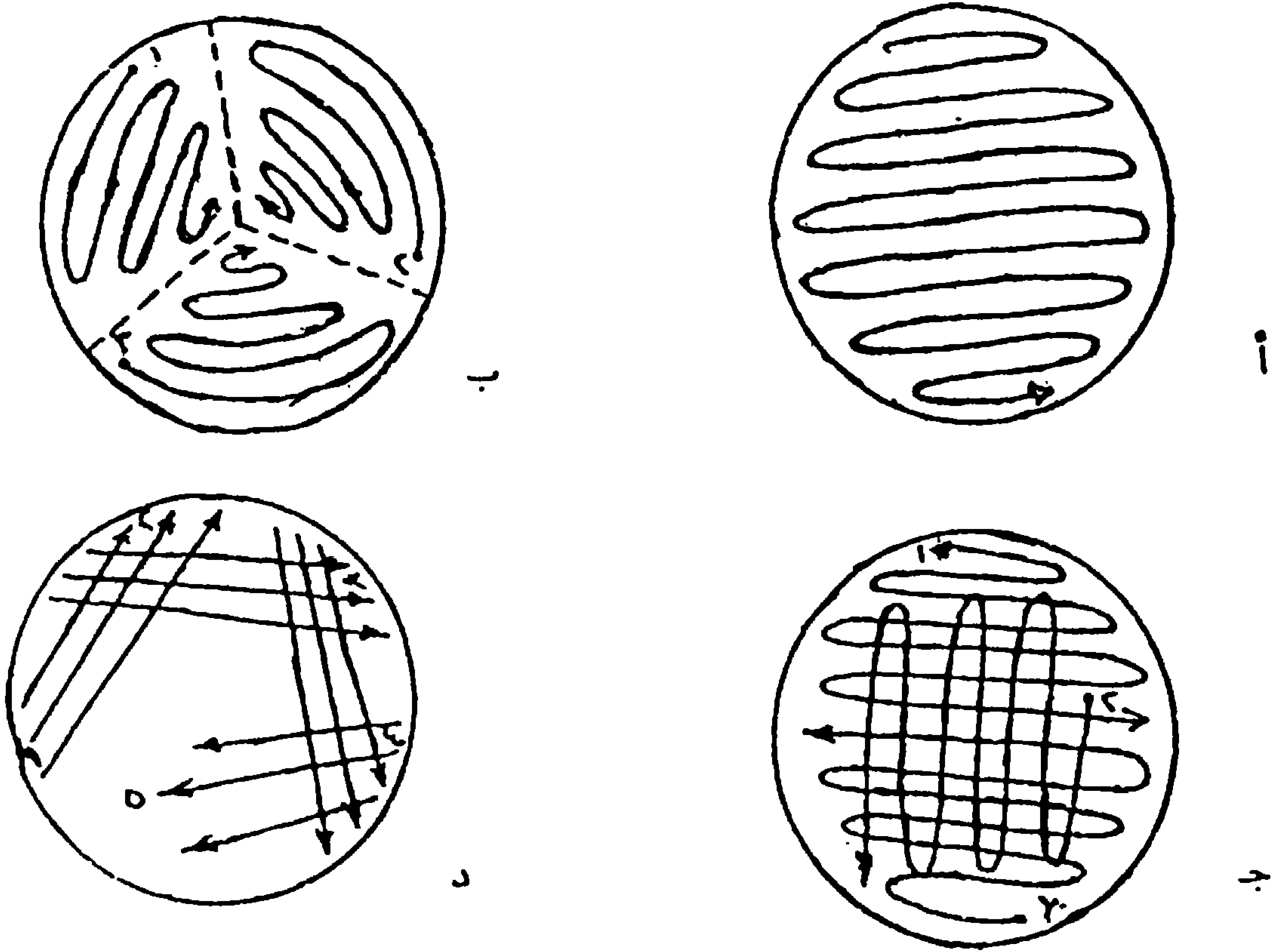
أـ بعمل خط متصل مبتدئا من أحد جهات الطبق حتى الوصول الى النهاية الأخرى مع عمل الانحناءات اللازمة لعمل خطوط متوازية شكل (٣ـ١أ) . وتظهر المستعمرات المنفردة فى نهاية الخط عادة .

ب ـ بعمل ثلاثة خطوط متماثلة فى ثلاث أقسام من الطبق الذى سبق تقسيمه بقلم من قاعه ـ وفى كل قسم يعمل خط متصل غير متقاطع وبانحناءات لعمل خطوط متوازية كما فى الشكل (٣ـ١ب) وتظهر المستعمرات المنفردة على آخر خط يجرى عمله .

جـ ـ بعمل خطوط متوازية كما سبق فى (أ) ثم تعقيم الابرة ثانيه ثم تعمل خطوط متعامدة على الثانية وتظهر المستعمرات المنفردة على طول الخطوط الأخيرة .

د ـ بعمل خطوط متعامدة فى ثلاث أو أربع اتجاهات مع تعقيم الابرة بعد عمل الخطوط فى كل اتجاه . وتظهر المستعمرات المنفردة عادة على آخر الخطوط التى تم عملها (٣ـ١ د) .

بعد عمل الخطوط تحضن الأطباق مقلوبة حتى تظهر النموات المختلفة وينقل من المستعمرات المنفصلة الى أطباق جديدة بنفس



شكل ٣ ـ ١ : طرق تخطيط الآجار لعزل الأحياء الدقيقة وتنقيتها

أ ـ عمل خط متصل مبتدئا من أحد جهات الطبق حتى الوصول الى النهاية الأخرى مع عمل الانحناءات اللازمة لعمل الخطوط متوازية وتظهر المستعمرات المفردة فى نهاية الخط عادة ·

ب ـ عمل ثلاثة خطوط متماثلة فى ثلاثة أقسام من الطبق الذى سبق تقسيمه بقلم من قاعه ، وفى كل قسم يعمل خط متصل غير متقطع وبانحناءات لعمل خطوط متوازية وتظهر المستعمرات المنفردة على آخر خط يجرى عمله ·

جـ ـ يعمل خطوط متوازية كما سبق فى (أ) ثم تعقيم الابرة ثم عمل خطوط متوازية فى الاتجاه المتعامد ·

د ـ يعمل خطوط متوازية فى أحد جهات الطبق ثم تعقيم الابرة ثم عمل خطوط متعامدة عليها ·· ثم تعقيم الابرة مرة ثانية وعمل خطوط متعامدة على الاخيرة وهكذا وتظهر المستعمرات المنفردة على الخطوط الأخيرة ·

الطريقة للتأكد من نقاوة المستعمرات ٠

٢- الأطباق المصبوبة Poured Plates

يمكن الحصول على مستعمرات معزولة بعمل سلسلة تخفيفات لأى عينه يرغب فى عزل الأحياء الدقيقة منها ٠ توضع كميات صغيرة من كل تخفيف فى أطباق بترى معقمة ويصب عليها مستنبت منصهر مبرد الى درجة لا تكفى لتجمده ٠ ثم يجرى مزج المستنبت مع التخفيفات المختلفة فى الأطباق قبل أن يتم التجمد ٠ ثم تحضن الأطباق حتى تتكون المستعمرات ، فينقل من المستعمرات المنفصلة لمسة تلقيح Inoculum الى مستنبت جديد وتكرر العملية للتأكد من نقاء المستعمرات، ويستحسن قبل التكرار اجراء الفحص المجهرى للمستعمرات البكتيرية وعمل غشاء منها وصبغه - على الأقل - بطريقة صبغ واحدة مثل صبغة جرام (ستذكر فيما بعد) ٠ ويجب التأكد بعد تكرار التزريع Cultivation أن كل المستعمرات الناتجة متشابهة ومتطابقة مع المستعمرة الأصلية ولا يمكن الاعتماد على مستعمرة منفصلة أخذت من أول طبق كمزرعة نقية ٠

وقد تستخدم طريقة الأطباق المصبوبة لعد الأحياء الدقيقة (القابلة للنمو فى الظروف الهوائية) بوضع حجم محدد (١ ملليلتر) من سلسلة من التخفيفات المختلفة (كل منها يساوى $\frac{1}{10}$ الذى قبله) فى أطباق ثم صب مستنبتات آجار المغذية كما سبق ذكره ٠ ثم عد الأطباق التى تحتوى على عدد من المستعمرات يتراوح بين ٣٠، ٣٠٠ مستعمرة وضرب متوسط العدد فى مقلوب التخفيف لينتج العدد فى ١ مل من العينة الأصلية ٠ واذا كانت العينة صلبة فيؤخذ ١ جم من العينة الأصلية وتجرى عليه التخفيفات المذكورة مع اجراء العمل كما سبق للحصول على العدد فى ١ جم من العينة وفى جميع الحالات يجب مراعاة ظروف التعقيم فى جميع الخطوات ٠

طريقتا الأطباق المخطوطة والمصبوبة المذكورتين يمكن استخدامها لعزل الكائنات الهوائية (التى تنمو فى الظروف الهوائية) ٠ أما

اسخدام طريقة الأطباق لعزل البكتيريا اللاهوائية اجباريا .. فانـــه يشكل وضعا خاصا . فاذا كانت البكتيريا اللاهوائية اجباريا من النــوع الذى لا يموت بمجرد تعرضه للأكسجين الجوى فيمكن اتباع نفـــس الطرق السابقة ثم تحضينها فى أوعية خاصة ثم ازالة الأكسجين منها امــا بالحرق أو بالامتصاص بمواد كيميائية. وبالنسبة للبكتيريا اللاهوائيــة ذات الحساسية للأكسجين فانه يستخدم لها طرق خاصة أخرى .... كما أن الكائنات التى تنمو فى أعماق المحيطات تتطلب ظروف خاصــة لتنقيتها ، ولو أن معظم الأحياء الدقيقة التى عزلت من قاع المحيطــات هى تلك التى تتحمل الضغوط العالية دون أن تموت عند تنقيتها علــى الضغط الجوي العادي . الا أن عدم وجود الطرق التى تحمى البكتيريا التى تتطلب ضغطا عاليا لنموها غير متوفرة حاليا ، لذلك لم يمكـــن حتى الآن عزل بكتيريا تتطلب الضغط العالى لنموها كمتطلب أساس .

ثانيًا : العزل باستخدام المستنبتات (البيئات الصناعية) السائلة

ان طريقة العزل بالأطباق تعتبر ناجحة لعزل معظم البكتيريــا والفطريات نظرا لقدرة تلك الكائنات على النمو على المستنبتات الصلبة ، ولكن بعض البكتيريا ذات الخلايا الكبيرة لم يمكن حتى الآن تزريعهــا بنجاح على المستنبتات الصلبة. كما أن عددا كبيرا من البروتـــوزوا والطحالب لا يمكن تنميتها الا على مستنبتات سائلة فقط . ورغـــم أن الفيروسات قد بدأ تنميتها على المستنبتات الصلبة مع عوائلها حديثــا ، الا أن عددا كبيرا من هذه الفيروسات تعزل بسهولة من خلال ترشيــح السوائل فى المرشحات البكتيرية . وفى حالة الفيروسات بصفة خاصــه لا يمكن بالطبع الحصول على مزارع نقية لأن هذه الكائنات لا تعيـــش الا متطفلة تطفلا اجباريا على خلايا حية . لذلك فان مزارع الفيروسات لابــد وأن تكون من نوع المزارع المزدوجة أو مزارع الفردين- Two membered culture حيث تحتوى على الفيروس وعائله . كما أنه كثيرا ما تستخدم المستنبتات

السائلة Liquid media لعزل البكتيريا والخمائر من التربة وذلك للتغلب على نمو الفطريات الشائعة الانتشار فى التربة والتى كثيرا ما تغطى سطح المستنبتات الصلبة مسببة مشاكل كثيرة فى عزل الأحياء الأخرى على المستنبتات الصلبة . أما فى المستنبتات السائلة فان الفطريات تنمو مكونة ميسيليوم فى صور كروية يمكن التخلص منها بالترشيح عادة خلال ورق ترشيح عادى ثم عزل الأحياء الأخرى بعد ذلك على مستنبتات صلبة .

ان أبسط طريقة للعزل فى المستنبتات السائلة Liquid media هى تلك المعروفة باسم طريقة التخفيف . حيث تجرى سلسلة تخفيفات للعينة الأصلية بواسطة مستنبت سائل معقم وفى عدد كبير من الأنابيب تحقن كميات محدودة من كل تخفيف . والهدف من هذه العملية هو تلقيح سلسلة من الأنابيب بحجم محدد من معلق بكتيرى مخفف لدرجة أن احتمال وصول حتى خلية بكتيرية واحدة لكل أنبوبة يصبح صغيرا جدا (احتمال قدره ٠٥ر٠) فعندما يحقن عدد كبير من الأنابيب بتلقيح Inoculum فى هذا الحجم ، فانه من المتوقع طبقا لنظرية الاحتمالات Probability theory أن تكون ٩٥ر٠ (٩٥٪) من الأنابيب خالية من أى خلايا بكتيرية و ٠٤٨ر٠ (٨ر٤٪) من الأنابيب يصلها خلية بكتيرية واحدة و ٠٠١٢ر٠ (١٢ر٪) من الأنابيب يصلها خليتان بكتيريتان و ٠٠٠٠٢ر٠ (٠٠٢ر٪) من الأنابيب يصلها ثلاث خلايا بكتيرية . والاحتمال الأكبر لأن يكون ظهور أى نمو بكتيرى فى أى أنبوبة من عشرة أنابيب ملقحة .. وكنتيجة لذلك فان الاحتمال الأكبر أن يكون هذا النمو قد نتج عن خلية بكتيرية واحدة . ويكون هذا الاحتمال مساويا :

$$= \frac{٠٫٠٤٨}{٠٫٠٤٨ + ٠٫٠٠١٢ + ٠٫٠٠٠٠٢} = ٠٫٩٧٥ \text{ أو } ٩٧٫٥٪$$

ويتضاءل احتمال أن يكون النمو ناتجا عن خلية واحدة كلما زادت كمية التلقيح Inoculation الأصلى (عندما يزيد عدد الأنابيب

التى يظهر فيها نمو بعد التحضين) ۰۰۰ لذلك فمن الضرورى اجـراء العزل من التخفيف الذى يظهر عدد قليلا من الأنابيب التى يظهـر فيها النمو (أو التخفيف الذى لا يظهر نمو فى معظم أنابيبه) ۰ أنظر العدد الأكثر احتمالا فى الفصل الحادى عشر ۰

وعيب هذه الطريقة ينحصر بصفة أساسية فى أن العزل يتم فقـط للبكتيريا السائدة ، ولا يمكن بهذه الطريقة عزل البكتيريا الموجـودة بأعداد صغيرة مع أعداد كبيرة من بكتيريا أخرى فى المجتمعات المختلطة Mixed populations كما أن هذه الطريقة غير فعالة لعزل البروتـوزوا والطحالب من مصادر طبيعية ۰۰۰ حيث أن معظم المصادر الطبيعيـة تكون أعداد البكتيريا فيها تفوق كثيرا أعداد البروتوزوا والطحالب ۰

ثالثًا : عزل خلايا منفردة بالطرق المجهرية

Microscopically controlled Isolation

عندما يتعذر العزل بالأطباق أو بالتخفيف كما ذكر ، فانه يمكـن استخدام طريقة عزل خلايا منفردة بطرق خاصة ثم تزريعها ۰ وترجـع صعوبة هذه الطريقة الى صغر حجم الكائنات الدقيقة ۰ فالكائنـات الدقيقة ذات الخلايا الكبيرة مثل البروتوزوا والطحالب سهلة العـزل بهذه الطريقة ، ولكن عزل البكتيريا بهذه الطريقة أصعب من عـزل ذوات النواه الحقيقية ۰

ففى الخلايا الكبيرة يمكن عزلها بسهولة بواسطة أنبوبة شعرية مع الاستعانة بتكبير بسيط مثل ذلك المتحصل عليه بمجهر التشريـح Dissecting Microscope ذو قوه تكبير فى حدود ۱۰۰ مرة ۰ أما فـى حالة الرغبة فى عزل كائنات دقيقة أصغر فلابد من استعمال طرق خاصة كتلك التى تستعمل فيها جهاز العزل الدقيق Micromanipulator لعزل خلايا بكتيرية صغيرة باستعمال قوة تكبير بين ٥٠٠ الى ۱۰۰۰ مرة ۰

رابعًا : مزارع الفردين Two membered culture

أن الهدف الأساسى للعزل هو الحصول على مزرعة نقية ٠ ولكن فى حالات خاصة يستحيل الحصول على مزارع نقية كما فى حالة الفيروسات، وهى كائنات متطفلة اجبارية لا يمكنها أن تتكاثر بمفردها ولابد من وجود العائل حتى تتكاثر ٠ ولذلك فان أفضل الاختيارات المتاحة هو تكوين مزارع الفردين ٠ وليست مزارع الفردين قاصرة على الفيروسات فقط فان كثيرا من البروتوزوا تتغذى على البكتيريا ، ولابد فى هذه الحالة أيضا من تكوين مزرعة فردين بحيث تنمو البكتيريا على مستنبت (بيئة صناعية) وتنمو البروتوزوا على البكتيريا ٠

ولابد من ايجاد اتزان بين نمو الكائن الفريسة والكائن المفترس ، فلا يجب أن يكون الكائن الفريسة أسرع فى النمو من الكائن المفترس بحيث لا يسوده أو ينتج فى البيئة مواد تؤدى الى تثبيط نموه أو قتله كما لا يجب أن يكون نمو الكائن الفريسة بطيئا بدرجة تؤدى الى تجويع الكائن المفترس٠

التعقيم بين النظرية والتطبيق

The Theory and Practice of Sterilization

التعقيم هو عملية تؤدى الى قتل أو ازالة جميع الكائنات الحية الدقيقة ٠ ويمكن تحقيق التعقيم لمادة ما بالمعاملات الطبيعية أو الكيميائية القاتلة للأحياء أو بالترشيح فى حالة السوائل ٠

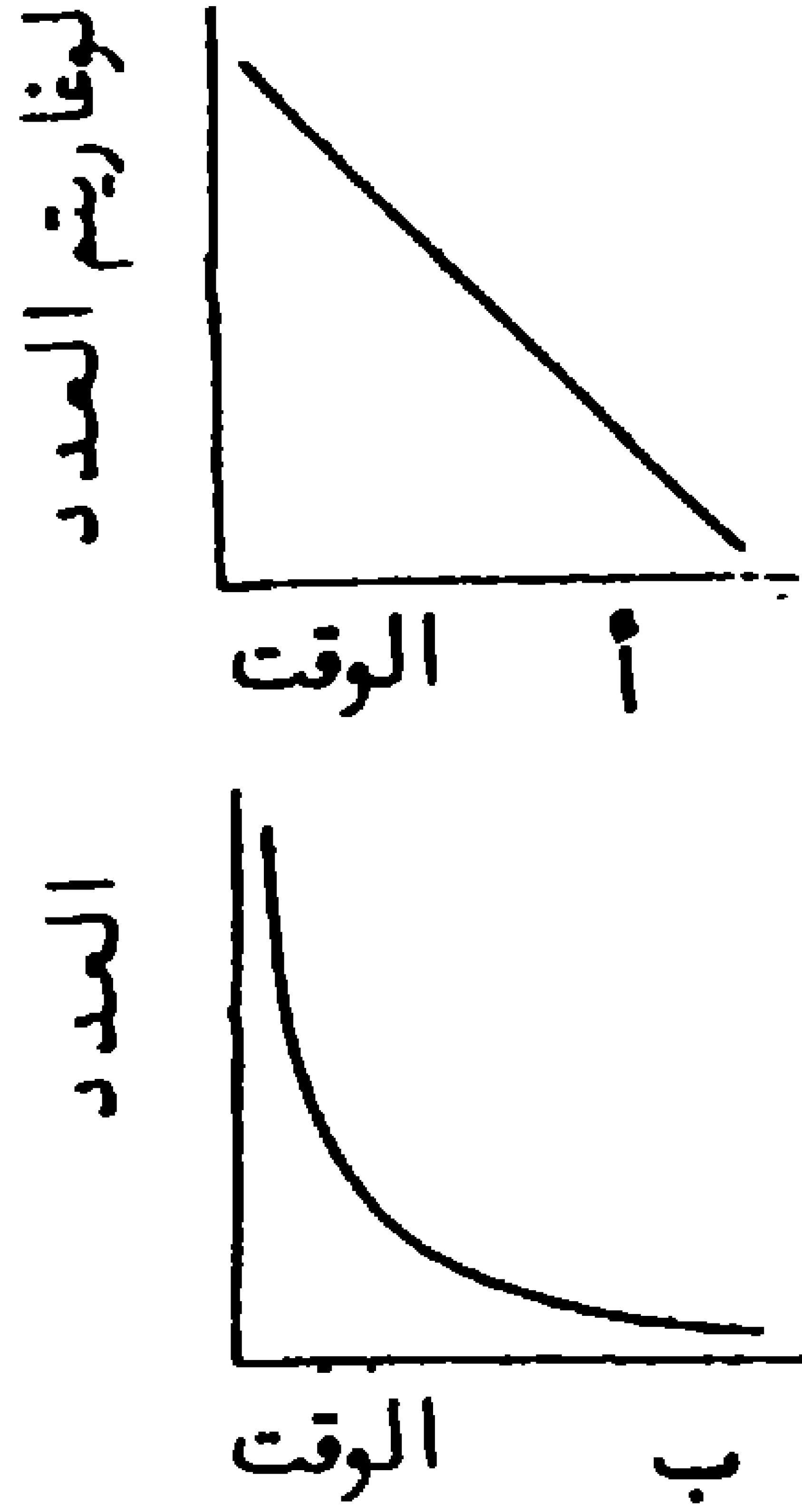
ولفهم أساس التعقيم بالمعاملات القاتلة فمن الضرورى توضيح كينيتيكية (حركية) الموت Kinetics of death لمجتمع الأحياء الدقيقة ٠ يمكن التعبير عن الموت فى الأحياء الدقيقة بالفقد غير الرجعى للقدرة على التكاثر ، ويمكن الاعتماد على هذه الصفة بواسطة عد الأحياء الدقيقة بطريقة الأطباق المصبوبة بعد المعاملات القاتلة فنجد أن الأحياء فقط يستطيعون تكوين مستعمرات٠

عند تعريض مجتمع نقى من الأحياء الدقيقة (وليكن نوع معين من البكتيريا) لمعاملة قاتلة مثل المعاملة بالحرارة العالية مثلا ، فان كينيتيكية الموت Kinetics of death تكون دائما لوغاريتمية Exponential بمعنى أن عدد الأحياء يتناقص بطريقة لوغاريتمية مع مرور الوقت. وهذا يعكس أن كل أفراد المجتمع ذو حساسية متماثلة وأن الاحتمالات فقط هى التى تحدد الوقت الفعلى لموت أى خلية فردية ، فاذا رسمت العلاقة بين لوغاريتم عدد الأحياء ووقت تعريض مجتمع معين من الأحياء الدقيقة لمعاملة قاتلة فاننا نحصل على خط مستقيم ذو ميل سالب كما فى الشكل (٣ـ٢) ويمثل ميل المنحنى Slope معدل الموت Death rate.

ويمكن استخدام معدل الموت والعدد الابتدائى لحساب النسبة المتبقية من الأحياء الدقيقة بعد معاملة الأحياء الدقيقة بمعاملة قاتلة لمدة زمنية معينة. ونظرا لأن معظم المجتمعات الموجودة فى الطبيعة تكون مجتمعات مختلطة Mixed populations فانه عادة ما يعتمد على أكثر الكائنات الحية الدقيقة مقاومة للحرارة والتى غالبا ما تكون جراثيم (أبواغ) داخلية للبكتيريا . ولذلك فانه عند الرغبة فى تقييم طريقة للتعقيم (بالحرارة مثلا) تستخدم معلقات مائية من الجراثيم (الأبواغ) المقاومة للحرارة المرتفعة.

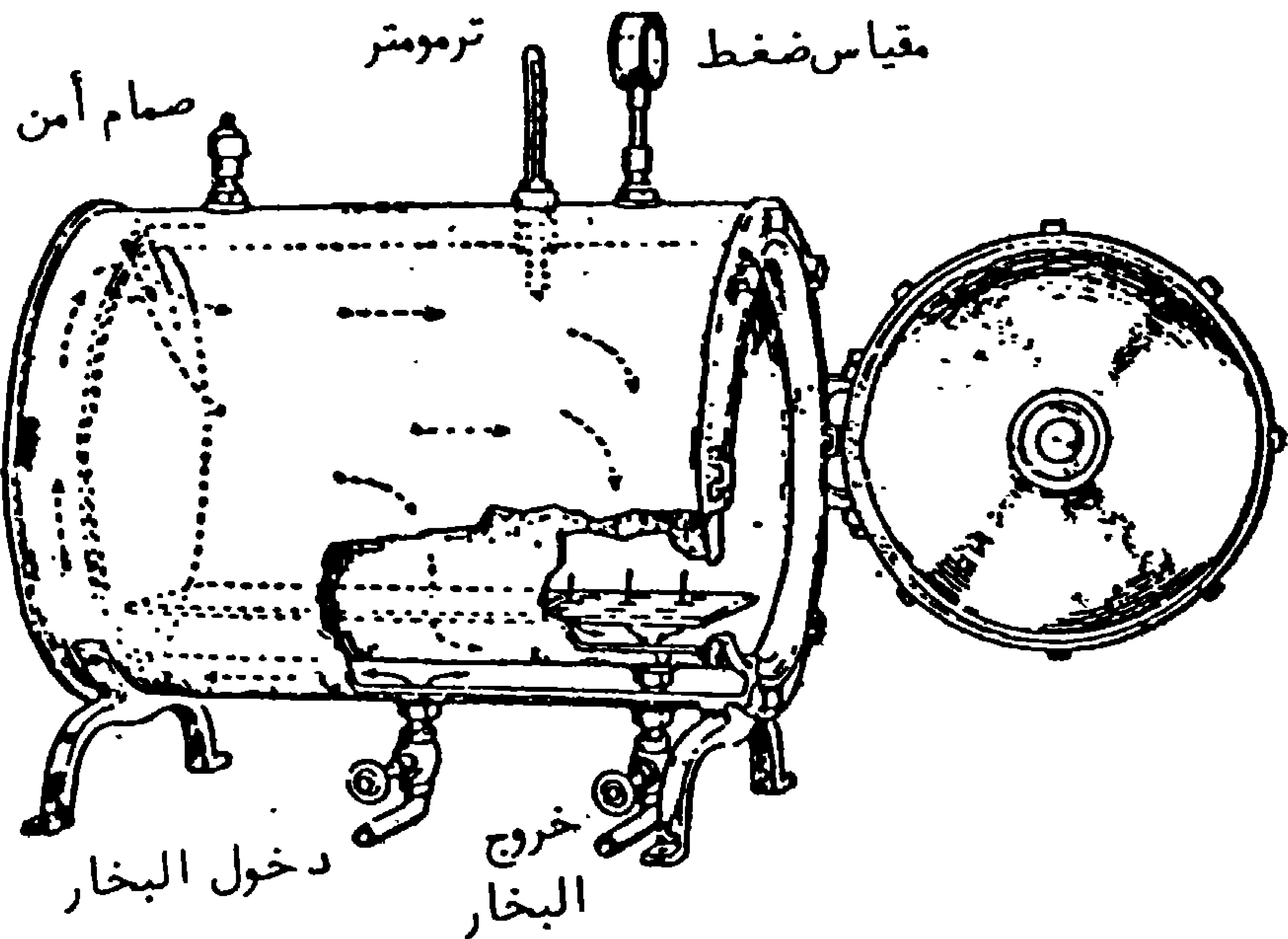
وعند الرغبة فى التعقيم بأى معاملة قاتلة آخذين فى الاعتبار كينتيكية موت الأحياء الدقيقة ـ فاننا نهدف أن يكون احتمال وجود ولو حتى خلية حية واحدة فى المادة المعقمة صغير جدا جدا ...

فمثلا اذا رغبنا فى تعقيم لتر واحد من مستنبت (بيئة صناعية) سائل . فاننا يمكننا الوصول الى هذا الهدف بطريقة عملية عندما تؤدى المعاملة الى أن يكون عدد الأحياء الدقيقة المتبقية لا تزيد عن خلية حية واحدة فى 10^{6} لتر. وعندئذ يكون احتمال وجود أى أحياء دقيقة فى تلك الكمية ضئيلة جدا بحيث لا يكون لذلك أى أهمية. ومعظم طرق التعقيم فى الصناعة تأخذ فى الاعتبار درجة كبيرة من الأمان.



شكل ٣ـ٢ : العلاقة الكينتيكية لموت البكتيريا عند معاملتها بمعاملة حرارية مميتة • حيث تكون العلاقة لوغاريتمية •

أ ـ العلاقة موضحه على ورق شبه لوغاريتمي •
ب ـ العلاقة مبينة على ورق رسم بياني عادى •



شكل ٣ـ٣ : معقم (أوتوكلاف) يعمل بالبخار المضغوط

ويمكن اجمال طرق التعقيم فيما يلي :-

أولاً : الطرق الطبيعية للتعقيم Physical methods of sterilization

١) التعقيم بالحرارة: Sterilization by heat

الحرارة هي أكثر المعاملات القاتلة المستخدمة لغرض التعقيم. يمكن تعقيم الأجسام اما بالحرارة الجافة dry heat في أفران تحت الضغط الجوى العادى أو بالحرارة الرطبة Moist heat التي يتم الحصول عليها بالبخار الرطب Wet steam

أ- التعقيم بالحرارة الجافة

الحرارة الجافة تتطلب وقت أطول ودرجة حرارة أعلى من الحرارة الرطبة نظرا لأن التوصيل الحرارى بالهواء أقل كفاءة من البخار الرطب. بالاضافة الى ذلك فان البكتيريا تظل حية في ظروف الجفاف التام. وتحت ظروف الجفاف التام فحتى الخلايا الخضرية تقاوم الحرارة العالية الى درجة تقرب من درجة مقاومة الجراثيم الداخلية للبكتيريا. لذلك فمعدل الموت للخلايا الجافة أقل كثيرا من معدل الموت في الخلايا الرطبة. وتستخدم الحرارة الجافة أساسا لتعقيم الأدوات الزجاجية والمواد الصلبة الأخرى التي تتحمل الحرارة المرتفعة وذلك بعد لفها في ورق أو وضعها في عبوات تمنع اعادة تلوثها بعد التعقيم.

ويجرى التعقيم عادة على درجة حرارة من ١٦٠ - ١٨٠ مْ لمدة من ١-٣ ساعات في أفران خاصة.

ب - التعقيم بالحرارة الرطبة

التعقيم بالبخار الرطب يستخدم لتعقيم المحاليل المائية.

وتجرى هذه المعاملة فى أوعية معدنية ذات تصميم خاص (شكل ٣ـ٣) تسمى المعقم (الأوتوكلاف Autoclave) الذى يملأ بالبخار الرطب على ضغط أعلى من الضغط الجوى . لذلك ، فالتعقيم يمكن الوصول اليه على درجة حرارة أعلى من درجة حرارة غليان الماء على ضغط أعلى من الضغط الجوى العادى . ومعظم معقمات المعامل تشغل بصفة عامة على ١٤٫٧ رطل / البوصة المربعة (تقريبا ١٥ رطل / البوصة المربعة أو ١ كجم / سم٢) فوق الضغط الجوى . وعند هذا الضغط تكون درجة الحرارة داخل الأوتوكلاف حوالى ١٢١٫٦ °م تقريبا بشرط أن يكون المعقم قد تم تفريغه من الهواء تماما . وعند هذه الدرجة من الحرارة تموت أكثر الأحياء الدقيقة مقاومة للحرارة وهى الجراثيم الداخلية للبكتيريا عند تعريضها فترة زمنية قصيرة علما بأن بعض جراثيم البكتيريا تتحمل درجات حرارة غليان الماء لعدة ساعات . وعند الرغبة فى تعقيم كميات كبيرة من المحلول فانه يلزم اطالة مدة التعقيم للأخذ فى الاعتبار الوقت الذى ينقضى لكى تصل درجة حرارة جميع أنحاء المحلول الى درجة حرارة التعقيم .

درجة ١٢١٫٦ °م داخل الأتوكلاف يمكن الوصول اليها عند ضغط ١٥ رطل / البوصة المربعة (١ كجم / سم٢) بشرط طرد كل الهواء من داخل المعقم لكى يكون كل الضغط المتولد داخل المعقم ناتج عن ضغط بخار الماء . فعند بداية التعقيم يجب طرد كل الهواء الذى يشغل حيز المعقم الداخلى بواسطة البخار الناتج عن التسخين ، وتزود المعقمات بصمامات خاصة لطرد الهواء ، فتترك تلك الصمامات مفتوحة بعد اغلاق المعقم وبعد بدء التشغيل وعند غليان الماء داخل المعقم يحل البخار محل الهواء طاردا اياه من الصمام المذكور ويستدل على خروج الهواء كله من المعقم بخروج تيار مستمر غير متقطع من البخار من الصمام المذكور . وبعد تمام طرد الهواء يغلق الصمام ويسمح للضغط بالارتفاع حتى يصل الى ١٥ رطل / البوصة المربعة وعادة يتم التعقيم على هذه الدرجة لمدة ١٥ دقيقة ثم يفصل مصدر الحرارة ويترك المعقم ليبرد تدريجيا حتى ينخفض الضغط الى مستوى الضغط الجوى العادى ثم يفتح المعقم ، ويحظر

فتح المعقم قبل انخفاض الضغط لمستوى الضغط الجوى العادى لما قد يسببه من تعرض الشخص القائم بفتحة للبخار المضغوط ·

كما يجب الاشارة الى أن عدم التخلص من الهواء تماما من المعقم يؤدى الى عدم كفاية المعاملة الحرارية للتعقيم لأن وجود بعض الهواء مع البخار يقلل من درجات الحرارة التى يمكن الوصول اليها ·

ولذلك تزود المعقمات بمقياس لدرجة الحرارة (ترمومتر) ومقياس لقياس الضغط (مانومتر) · كما يجب وجود صمام أمان لتصريف البخار الزائد ـ اذا وجد ـ لمنع انفجار الجهاز اذا استمر توليد البخار فيه أكثر من ١٥ رطل / البوصة المربعة ولمنع تكرمل أو احتراق بعض المكونات المواد المراد تعقيمها · كما تزود بعض المعقمات حاليا بخرائط ورقية ذات ألوان معينة وتتغير هذه الألوان اذا كانت المعاملة الحرارية غير كافية ·

جـ ـ التعقيم بالمعاملات الحرارية المتقطعة :

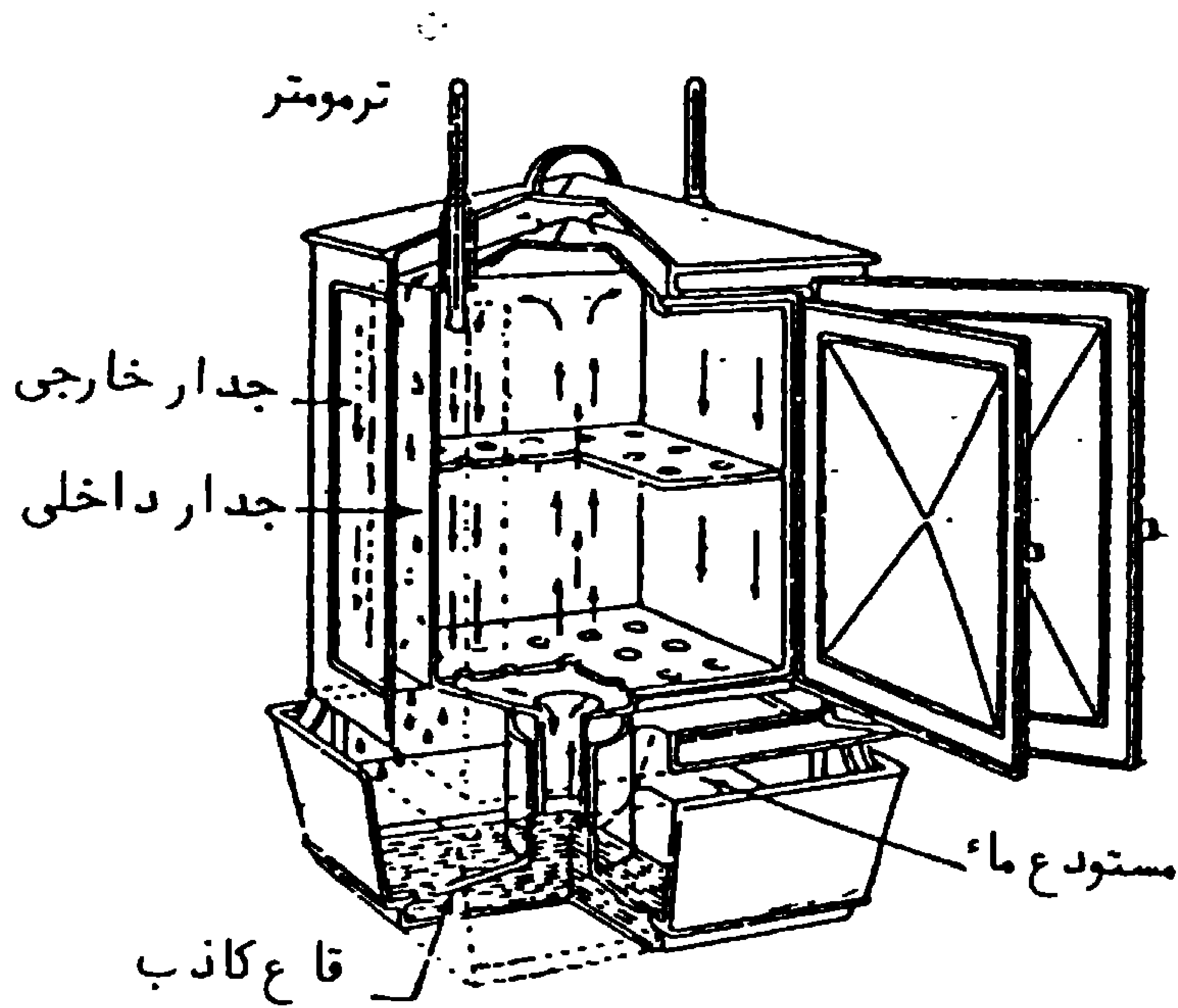
لقد سبق الاشارة الى أن تعقيم السوائل (المحاليل المائية) يتم عادة بالمعقم (الأوتوكلاف) باستخدام البخار الرطب· الا أن بعض المحاليل المائية الحيوية لا تتحمل درجات الحرارة المرتفعة المذكورة وينتج عن ذلك تكرمل السكريات أو تجمع البروتينات· وفى مثل هذه الحالة تستخدم درجات حرارة أقل من درجة الحرارة المستخدمة فى التعقيم بالحرارة الرطبة ولكن على فترات متعددة · والفكرة فى التعقيم بالمعاملات الحرارية المتقطعة هو قتل الخلايا الخضرية بالمعاملة الحرارية الأولى (١٠٠ م° / ٣٠ دقيقة) وتؤدى هذه المعاملة الحرارية الأولى أن تنشيط الجراثيم لكى تنبت ، ثم تعامل المادة الغذائية بالحرارة (١٠٠ م° / ٣٠ دقيقة) مرة ثانية فى اليوم الثانى لقتل الخلايا الخضرية وتنشيط البقية الباقية من الجراثيم لكى تنبت ثم تقتل بمعاملة حرارية (١٠٠ م° / ٣٠ دقيقة) مماثلة فى اليوم الثالث

وتعرف هذه الطريقة باسم Tyndallization ثم تحضن المادة المعقمة بعد ذلك على ٣٠° م للتأكد من خلوها من الأحياء الدقيقة ، ولا يلزم في مثل هذه الطريقة استعمال الأوتوكلاف ويمكن استعمال حمام مائي مغطى أو يستخدم لذلك معقم أرنولد Arnold sterilizer الذى يسخن بالبخار أو بالماء (شكلى ٣_٤ ، ٣_٥) .

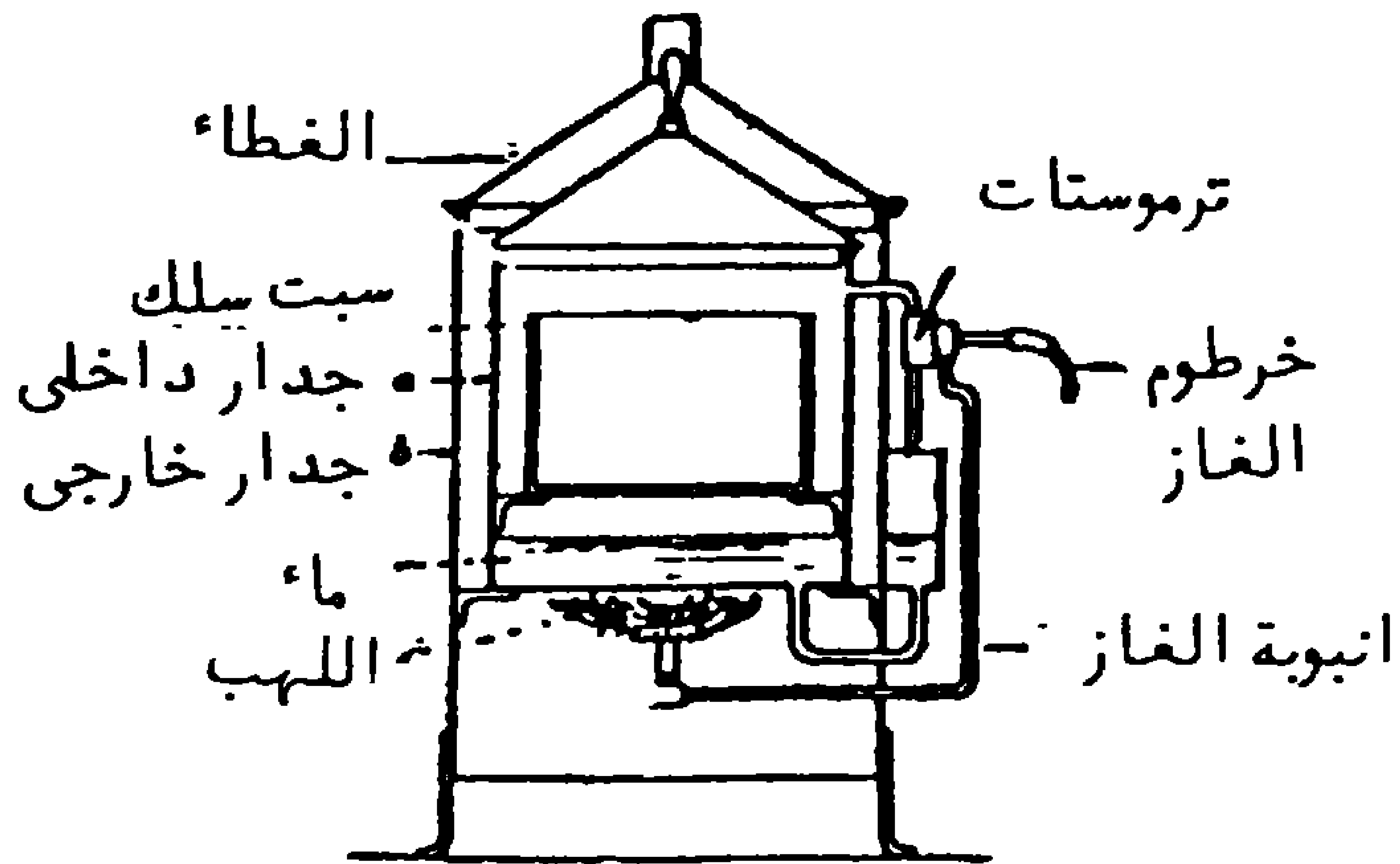
وقد استعمل في الماضي طريقة أخرى مشابهة تعتمد على نفس الأساس لتعقيم سيرم الدم والذى لا يتحمل درجات غليان الماء . فتستخدم درجات حرارة ٥٧°م لمدة ساعة يوميا . وتكرر المعاملة لمدة ثمانية أيام متتالية . وهذه الطريقة غير شائعة الاستعمال الآن . — وتستخدم طرق أخرى أكثر دقة وفاعلية .

٢) التعقيم بالاشعاعات Radiation Sterilization

الأشعة تخرج من مصادر الطاقة وتنتقل من مكان لآخر في الهواء أو في الفراغ الخارجي Outer space وتتكون من جزيئات Particles أو موجات كهرومغناطيسية Electromagnetic waves. الأشعة ذات الجزيئات Particles عبارة عن موجات من الذرات أو الالكترونات أو النيوترونات ولن نناقشها هنا . أما الأشعة الكهرومغناطيسية فهي النوع الذى يهمنا وهى تشمل موجات الراديو Radio waves والضوء والأشعة السينية X-ray. وتتحدد خواص الأشعة الكهرومغناطيسية بالطول الموجي لها . وأطول موجات الأشعة هي موجات الراديو وليس لها تأثير يذكر على الأنظمة الحيوية . أما الأشعة التى تنقص في الطول الموجي عنها فهي الأشعة تحت الحمراء Inferared rays وهى أشعة منتجة للحرارة عندما تمتص . ويجدر الاشارة أن الأشعة تحت الحمراء ذات طول موجي أقل من ١٠٠٠ نانوميتر وأكبر من ٧٦٠ نانوميتر يمكن استخدامها بواسطة البكتيريا الممثلة للضوء كمصدر للطاقة ، أما الجزء المرئى (بواسطة العين) من الأشعة فهو ذلك الجزء من الأشعة الذى له طول موجي يتراوح بين ٣٨٠ _ ٧٦٠ نانوميتر . وهذه الأشعة هي المصدر



شكل ٣ـ٤ : جهاز أرنولد يشتغل بالبخار مباشرة



شكل ٣ـ٥ : جهاز أرنولد للتعقيم بالبخار على ١٠٠°م

الأساس للطاقة للطحالب (الكائنات الدقيقة ذات النواة الحقيقية الممثلة للضوء) ٠

أما الأشعة الأقصر فى الطول الموجى (وهى أشعة غير مرئية) فهى الأشعة فوق البنفسجية UV Light والتى يتراوح طولها الموجى بين ٢٠٠ ـ ٣٨٠ نانوميتر فهى ذات تأثير متلف للأحياء (الأنظمة الحية) وخاصة كلما قل الطول الموجى ٠

أقوى مصدر للأشعة تحت الحمراء Inferared والأشعة المرئية Visible light والأشعة فوق البنفسجية Ultraviolet radi--ations هو الشمس رغم أن جزء هام من الأشعة تحت الحمراء والأشعة فوق البنفسجية لا يصل الى الأرض نتيجة امتصاصه فى طبقات الهواء الجوى.

أشعة التأين Ionizing radiations هى أشعة ذات طول موجى أقصر من الأشعة فوق البنفسجية وتشمل الأشعة السينية X-rays وهى عادة تنتج من مصادر صناعية ، والأشعة جاما Gamma rays وهى شبيهة بالأشعة السينية تنتج من تحلل decay المواد المشعة ، والأشعة الكونية Cosmic rays التى تصل الى الأرض من الفضاء الخارجى Outer-space ٠ وكل أنواع أشعة التأين تسبب تأين الماء ومواد أخرى ولها تأثير ضار على الأحياء ٠

وفيما يلى نتعرض لأنواع الأشعة الثلاث (فوق البنفسجية ـ والضوء المرئى وأشعة التأين) التى تستعمل فى التعقيم ٠

أ-الأشعة فوق البنفسجية UV radiations :

الأشعة فوق البنفسجية ذات أهمية خاصة فى التعقيم نظرا لتأثيرها القاتل على الكائنات الدقيقة ٠ ورغم أن الشمس تشع كميات كبيرة من الأشعة فوق البنفسجية بأطوالها الموجية المختلفة ، الا أن معظم الأشعة فوق البنفسجية ذات الطول الموجى القصير ، وهى الأشعة ذات التأثير الأقوى فى التعقيم تمتص فى طبقات الجو ٠ أما الأشعة

فوق البنفسجية ذات الطول الموجى الأطول (وهى الأشعة ذات التأثير الأقل فى التعقيم) فيصل معظمها الى الأرض٠ والكائنات الحية الدقيقة التى تصل الى طبقات الجو العليا بطريقة أو أخرى تقتل بسرعة بواسطة الأشعة فوق البنفسجية ٠ كما أن الأحياء الدقيقة على أسطح الصخور المعرضة لأشعة الشمس تقتل أيضا بالأشعة فوق البنفسجية٠

تمتص قواعد البيورين والبيريميدين _ الموجودة فى الأحماض النووية للخلية _ الأشعة فوق البنفسجية بشدة وأقصى امتصاص للأشعة فوق البنفسجية هو عند طول موجى مقداره ٢٦٠ نانوميتر٠ كما أن البروتينات أيضا تمتص الأشعة فوق البنفسجية ، وأقصى امتصاص للبروتينات للأشعة فوق البنفسجية هو عند طول موجى ٢٨٠ نانوميتر حيث تمتص الأشعة فوق البنفسجية بواسطة الأحماض الأمينية الحلقية (التربتوفان _ الفينايل ألانين _ والتيروزين) ٠ وقد ثبت أن التأثير القاتل للأشعة فوق البنفسجية انما يعزى أساسا لتكوين ازدواج الثيمين Thymine dimers فترتبط قاعدتى ثيمين متجاورتين ببعضهما ارتباطا كيميائيا لينفصلا بذلك عن القاعدتين المقابلتين (أدنين _ أدنين) فى السلسلة الثانية من الحمض النووى د ن أ DNA (شكل ٣_٦) ٠

وتحتوى كثير من الكائنات على نظم لاصلاح التلف الحادث نتيجة لتكوين ازدواج الثيمين ٠٠٠ ونظم الاصلاح هذه قد لا تتم الا فى الضوء فتسمى " نظم الاصلاح المنشطة بالضوء Repair mechanism photo reactivation ، وقد يتم اصلاح التلف فى الظلام فيسمى نظم الاصلاح التى تتم فى الظلام Repair mechanism dark reactiv-ation ولا يعتبر الضوء ضرورى لحدوثها ٠ ونظرا لوجود نظم الاصلاح المذكورة فان الأشعة فوق البنفسجية تقتل الأحياء الدقيقة اذا كانت التلفيات التى تحدث فى الأحماض النووية أكبر من كفاءة نظم الاصلاح على اصلاح التلف٠

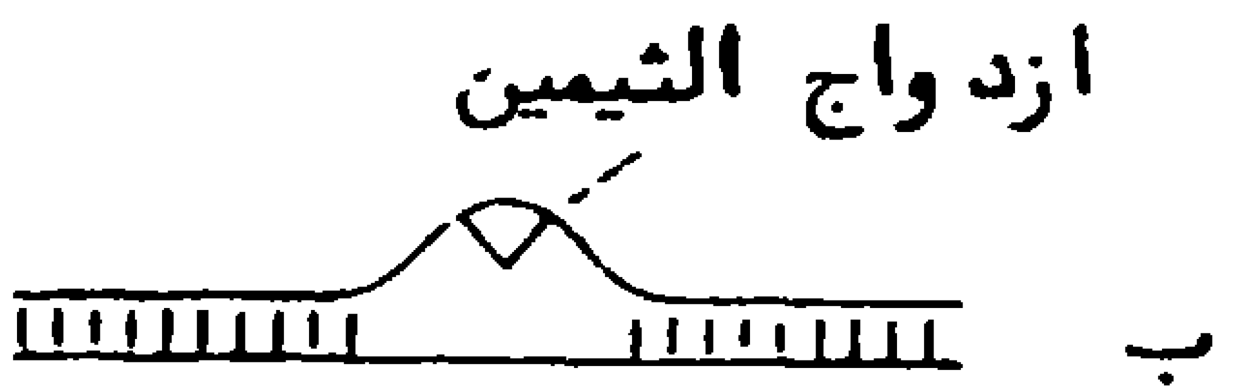
رغم أن الهواء الجوى يمتص كميات كبيرة من الأشعة فوق البنفسجية الا أن كميات كبيرة منها تصل الى الأرض ، ولا شك أن الأشعة فوق البنفسجية تلعب دورا كبيرا فى تنظيم البيئات Environments التى تتعرض لكميات كبيرة من أشعة الشمس مثل

المعاملة بالأشعة فوق البنفسجية

أ



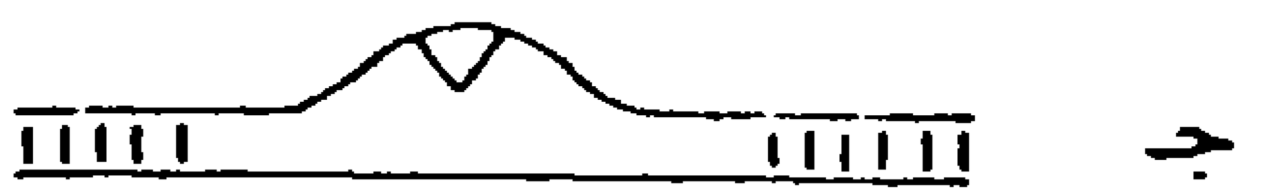
ازدواج الثيمين



ب

ارتباط الانزيم المنشط بالضوء (PR)

ضوء مرئى



جـ

التحرر من الانزيم
والحصول على دن أ سليم

د

جزئى دن أ تم اصلاحه

شكل ٣ــ٦ : تكوين ازدواج الثيمين واصلاح التلف المنشط بالضوء ·

أ ــ جزيئ دن أ سليمة قبل التعرض للأشعة فوق البنفسجية ·

ب ــ جزيئ دن أ تعرض للأشعة فوق البنفسجية فتكون به ازدواج الثيمين ·

جـ ــ اصلاح التلف المنشط بالضوء حيث يقوم أنزيم (PR) بازالة الجزء التالف · وهذا الانزيم ينشط فى وجود الضوء ·

د ــ يتم بناء جزء بديل لاستكمال جزيئ دن أ الأصلى ،بذلك يتم اصلاح التلف·

البحيرات وسطح التربة والصخور وغيرها · وتصل الأشعة فوق البنفسجية لأقصى تركيز لها في وسط النهار في الأيام المشمسة الخالية من الغبار، حيث يكون اختراق أشعة الشمس لطبقات الهواء أعلى ما يمكن ·

ولا شك أن الأشخاص الذين تحتم عليهم أعمالهم التعرض لأشعة الشمس لأوقات طويلة تتأثر جلودهم بذلك تأثر واضح ·

وتستغل الأشعة فوق البنفسجية في تعقيم أماكن خاصة مثل غرف العمليات الجراحية لتقليل فرص تلوث الجروح · وكذلك في مختبرات مزارع الأنسجة Tissue culture ومعامل تعبئة الأدوية والعقاقير المعقمة وغرف التلقيح Inoculation rooms الملحقة بمختبرات الأحياء الدقيقة · وفي محطات الحجر الزراعي لتطهير المنتجات الزراعية مما يكون عالقا بها من الأحياء الدقيقة التي يخشى انتقالها من مكان لآخر ، كما تستخدم لمبات الأشعة فوق البنفسجية لتعقيم الأسطح التي يخشى تعرضها للحرارة مثل الأسطح البلاستيكية المراد تعقيمها وغيرها كأسطح البنشات في المعامل البكتيريولوجية · والأشعة فوق البنفسجية UV Radiation ذات قدرة محدودة على الاختراق أو التغلغل داخل الأشياء ، لذلك ففعلها التعقيمي يكون سطحيا لدرجة أن طبقة رقيقة جدا من الزجاج تحجز نسبة كبيرة منها ، لذلك لا تستخدم الأشعة فوق البنفسجية لتعقيم المواد في الأوعية الزجاجية ·

ب- الضوء المرئي Visible light :

يمكن استخدام الضوء المرئي بقوة كافية لعمل تلفيات خلوية تؤدي الى مقتل الخلية. توجد ميكانيكيتان لقتل الأحياء الدقيقة بالضوء المرئي ، احداهما تتضمن وجود الأكسجين الجزيئي والثانية لا تعتمد على وجود الأكسجين ، وكلا الطريقتان تعتمدان على وجود المواد الممتصة للضوء Photosensitizers في الخلية (والتي توجد في كل الخلايا تقريبا) مثل السيتوكروم Citochrome أو الفلافين Flavins أو الكلوروفيل Chlorophylls فعندما تمتص هذه المواد الضوء فانها

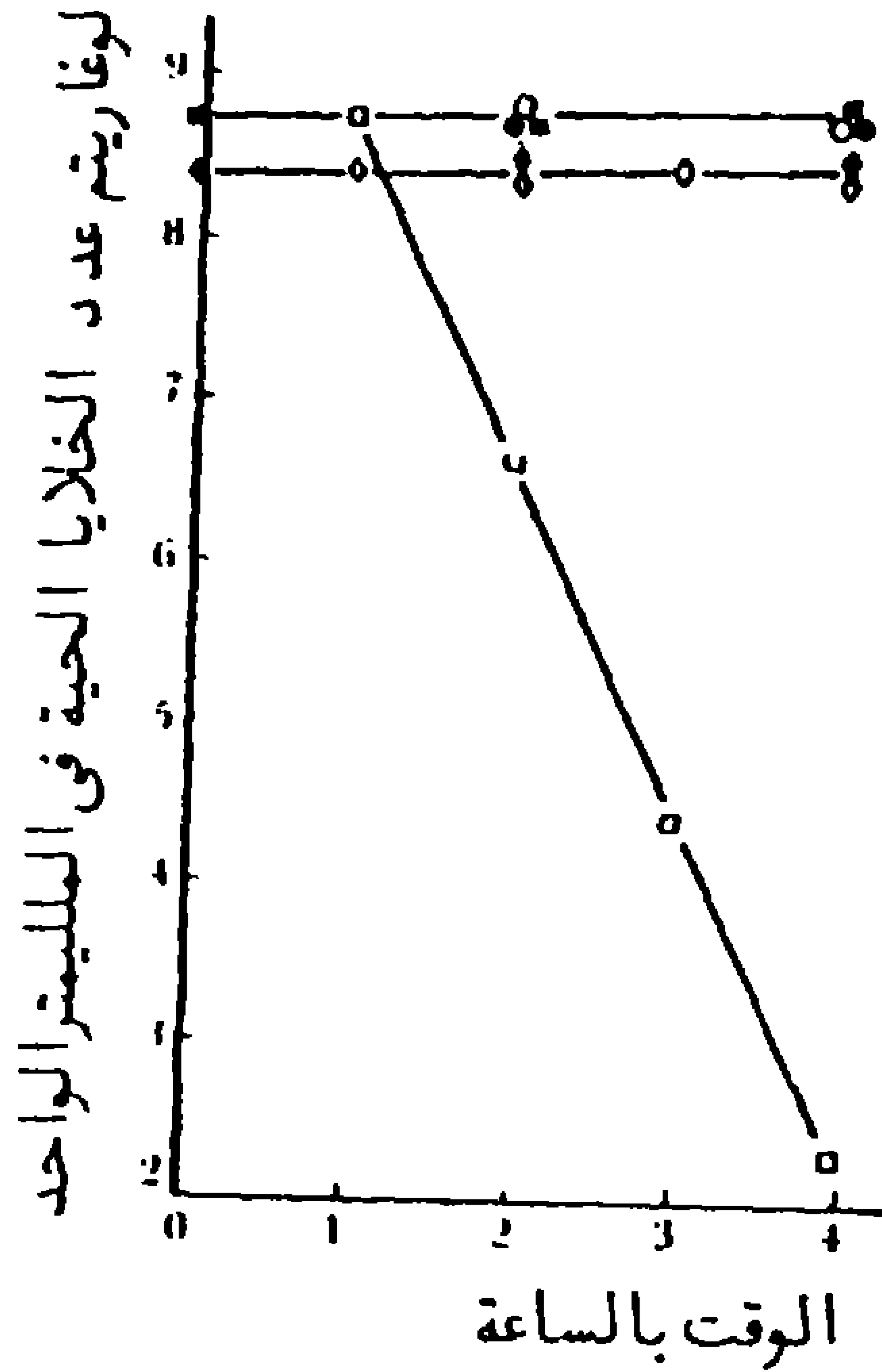
تصبح نشطة وتصبح ذات مستوى طاقة مرتفع ويمكن لهذه المواد العودة لمستوى الطاقة الأدني Ground state باشعاع الطاقة في صورة ضوء أو فلورسنت Florescence أو بواسطة نقل الطاقة الزائدة لمركبات كيميائية أخرى في الخلية .

ففي ميكانيكية القتل التي لا تعتمد على وجود الأكسجين تنتقل الطاقة من المادة الممتصة للضوء (كالسيتوكروم أو الفلافين أو الكلوروفيل) الى أى من عدة مركبات مكونة أصولا حرة Free radicals ذات القدرة الهائلة على التفاعل ويمكنها احداث تفاعلات ضارة . وهذا التفاعل محدود جدا اذا ما قورن بالميكانيكية الأخرى والتي تشمل الأكسجين النشط Singlet oxygen ($^1O_2$).

أما الميكانيكية التي تشمل تكوين الأكسجين النشط فانها تتم نتيجة امتصاص الضوء بالمواد الممتصة للضوء السابق الاشارة اليها وعندئذ تصبح نشطة وهي ذات فترة حياة Life time قصيرة ويمكنها الوصول الى الحالة الدنيا باشعاع الطاقة في صورة ضوء أو فلورسنت أو نقل الطاقة الى الأكسجين مكونة الأكسجين النشط Singlet oxygen وهذا الأكسجين النشط يكون ذا قدرة هائلة على الأكسدة ويمكنه أن يسبب عدة تأثيرات قاتلة ، لذلك فان بعض الأحياء الدقيقة التي تحتوى على مواد ممتصة للضوء بكثرة مع وجودها في أماكن معرضة للشمس لفترات طويلة — تكون ملونة فتمتص الصبغات اللونية معظم الضوء المرئي ، وبذلك تتمكن الخلية من الحياة (شكل ٣—٧) . ولا يستخدم الضوء المرئي كوسيلة للتعقيم .

جـ — أشعة التأين Ionizing radiation :

ان التأثير القاتل لأشعة التأين لا يأتي نتيجة تأثير الأشعة على مكونات الخلية ، بل يأتي نتيجة تكوين أصول حرة Free radicals ذات قدرة هائلة على التفاعل ، وخاصة أصول الهيدروكسيل (OH^-) ومثل هذه الأصول الحرة يمكنها التفاعل مع الجزيئات الكبيرة Macromolecules.



شكل ٣ـ٧ : تأثير ضوء الشمس على حيوية البكتيريا الكروية ميكروكوكاس لوتا (البيضاء أو الصفراء) Micrococcus Lutea

لاحظ أن الموت يحدث في السلالة البيضاء ولا يحدث في السلالة الصفراء ٠ حيث أن الصبغة الصفراء تكسب الخلايا حماية من الضوء المرئي ٠ ولا يحدث القتل في الظروف اللاهوائية ، ولكن فقط في وجود الهواء ٠ ولذلك فان القتل بالضوء عبارة عن تفاعلات أكسدة تتطلب وجود الاكسجين٠

نقلا عن : Mathews, M.M. and Sistorm 1959 Nature 184: 1982

١ـ في وجود الهواء ٠
- o خلايا صفراء في الضوء ٠
- ● خلايا صفراء في الظلام ٠
- ▫ خلايا بيضاء في الضوء ٠
- ■ خلايا بيضاء في الظلام ٠

٢ـ في وجود النيتروجين ٠
- ◊ خلايا بيضاء في الضوء
- ◆ خلايا بيضاء في الظلام ٠

وتثبيطها فى الخلية . ولو أن هذه الأصول الحرة يمكنها التفاعل مع معظم مكونات الخلية الا أن القتل يأتى نتيجة تأثيرها على الحمض النووى د ن أ DNA حيث توجد نسخة واحدة فقط من الحمض النووى د ن أ ، فاذا تلفت تموت الخلية ، أما الانزيمات ومختلف البروتينات فيوجد منها عدة نسخ ، فاذا تلفت نسخة فباقى النسخ تقوم بالعمل الحيوى .

ويمكن اصلاح بعض التلفيات التى تحدث فى الخلية نتيجة أشعة التأين ،وهذا الاصلاح يمكن أن يتم فى الظلام Dark reactivation أما نظم الاصلاح التى تنشط بالضوء Photo reactivation فهى غير معروفة بالنسبة لتلفيات أشعة التأين .

بعض البكتيريا مقاومة جدا لهذا النوع من الأشعة مثل Micrococcus radiodurans وبعضها حساس لأشعة التأين مثل Pseudomonas كما أن البكتيريا الخضرية الجافة وكذلك جراثيم البكتيريا تكون أقل حساسية لأشعة التأين من البكتيريا الخضرية الرطبة . فعدم وجود الرطوبة يقلل من تأثر الأحياء الدقيقة بأشعة التأين .

كمية الاشعاع الكونى Cosmic rays التى تصل الى الأرض ليس لها تأثير يذكر على الأحياء نظراً لأن مستواها منخفض جدا .

ثانياً : الطرق الكيميائية للتعقيم

Chemical methods of sterilization

تستعمل بعض المواد الكيميائية فى أغراض التعقيم وذلك لفعلها المميت ، والمواد ذات التأثير القاتل للأحياء الدقيقة تسمى مبيدات الميكروبات أو مبيدات الأحياء الدقيقة Germicides وهى تستخدم على نطاق واسع حيثما لا يمكن استعمال الحرارة أو الأشعة أو الموجات الضوئية للتعقيم ، فالمستشفيات تجد من الضرورى استعمال الطرق الكيميائية لتعقيم الأشياء التى تتأثر بالحرارة مثل معدات الجراحة

أو مقاييس درجة الحرارة (الترمومترات) أو المعدات البصرية أوأنابيب البوليثيلين ومعدات التخدير . كما أن مصانع الأغذية تستخدم الطرق الكيميائية لتطهير أسطح المعدات التي تلامس الأغذية وكذلك أسطح الأرضيات والحوائط . ولا بد من الاشارة الى أن كثير من المواد الكيميائية يجب استخدامها بحذر شديد ليس فقط لما قد تسببه من تأثير ضار للغذاء أو الأشياء التي تستخدم لتطهيرها ، بل أيضا لأن كثير من مبيدات الأحياء الدقيقة Germicides تكون في الغالب ذات تأثير قاتل للخلايا الخضرية فقط بينما يكون تأثيرها بسيط في قتل الجراثيم (الأبواغ) الداخلية للبكتيريا . وقد ذكرنا سابقا أن التعبير تعقيم يعني قتل أو ازالة كل الأحياء الدقيقة بما في ذلك الجراثيم (الأبواغ) . كما يجب الاشارة الى أن ميكروب السل المسمى Mycobacterium tuberclosis يكون مقاوما لكثير من مبيدات الأحياء الدقيقة Germicides وهو في حالته الخضرية .

وكثير من مبيدات الأحياء الدقيقة تكون ذات تأثير متخصص فالمواد التي تستخدم في قتل الفطريات تسمى مبيدات فطرية Fungicides وتسمى المواد ذات التأثير القاتل للبكتيريا مبيدات بكتيرية Bacteriocides والمواد ذات التأثير القاتل للطحالب تسمى مبيدات طحلبية Algicides . وهكذا يجب أيضا التمييز بين المواد القاتلة للميكروبات Germicides والمواد التي توقف نشاط الكائنات الدقيقة أو تعمل على ازالتها والتي تسمى مثبطات ميكروبية أو مثبطات الأحياء الدقيقة Germistatic وهذه الأخيرة أيضا ذات تأثير متخصص نوعا ما ، فالمواد ذات التأثير المثبط لنمو البكتيريا تسمى مثبطات بكتيرية Bacteriostatic والمواد ذات التأثير المثبط لنمو الفطريات تسمى مثبطات فطرية Fungistatic والمواد ذات التأثير المثبط لنمو الطحالب تسمى مثبطات طحلبية Algistatic وهكذا .

وكثيرا ما تقسم المواد ذات التأثير القاتل للأحياء الدقيقة الى قسمين هما :

(١) المواد المطهرة التى تستخدم لتطهير الجلد والأغشية المخاطية وتسمى مطهرات الجلد أو المطهرات الخارجية Antiseptic وهى مواد قاتلة للأحياء الدقيقة وليس لها تأثير على الجلد أو الأغشية المخاطية ·

(٢) المواد المطهرة التى تستخدم لتطهير الأشياء وتسمى المطهرات السطحية Disinfectant وهى مواد قاتلة للأحياء الدقيقة ولكن قد يكون لها تأثير ضار بالجلد أو الأغشية المخاطية ، وتستخدم لتطهير أسطح البنشات والأرضيات والحوائط ودورات المياه وأدوات الجراحة وغيرها · ولابد من التركيز على أن معظم المواد القاتلة للأحياء الدقيقة Germicides ذات تأثير محدود فى قتل الجراثيم (الأبواغ) الداخلية للبكتيريا · والجدول رقم (٣-١) يبين أقسام المواد التى تستخدم لتطهير الجلد Antiseptics والمواد التى تستخدم لتطهير الأشياء Disinfectants .

ثالثاً : الطرق الميكانيكية للتعقيم

Mechanical methods of sterilizations

الفكرة الأساسية فى استخدام الطرق الميكانيكية تعتمد على ازالة الأحياء الدقيقة من الوسط المراد تعقيمه بالترشيح خلال مرشحات ذات ثقوب لا تسمح بمرور الأحياء الدقيقة وتستخدم هذه الطريقة أيضا لتعقيم المواد الحساسة للمعاملات الحرارية المرتفعة ، ولقد كان يعاب على التعقيم بالترشيح عدم قدرته على حجز الفيروسات ، وذلك نظرا للصغر المتناهى لهذه الكائنات ، فالفيروسات تقترب فى حجمها من حجم الجزيئات الكبيرة ، أما الآن فيوجد فى الأسواق مرشحات لا تسمح بمرور الفيروسات منها بما يسمح بتعقيم السوائل وازالة حتى الفيروسات منها ·

وقد استخدمت المرشحات فى الماضى ومازالت تستخدم لفصل الكائنات الحية الخلوية عن الفيروسات · والمرشحات التى تستخدم لفصل

جدول ٣ـ١ : أقسام مبيدات الأحياء الدقيقة واستعمالاتها

المبيدات	تأثيرها
(١) أملاح المعادن الثقيلة :	
الزئبق : كلوريد الزئبق $HgCl_2$	يرتبط بمجموعة السلفدريل (SH) فى البروتينات . وهو شديد السمية للانسان ويمكن معادلته بمركبات تحتوى على مجموعة السلفدريل والمواد العضوية وتستخدم لتطهير الأسطح الخارجية disinfectant .
الفضة : نترات الفضة $AgNO_3$	يرسب البروتينات . ويمكن معادلته بالمواد العضوية . يستخدم لتطهير عيون المواليد الجدد للوقاية من ميكروب الزهرى .
النحاس : كبريتات النحاس $CuSO_4$	مادة مبيدة للطحالب . يستخدم فى حمامات السباحة وامدادات الماء . كما يستخدم كمادة مبيدة للفطريات فى أمراض النبات الفطرية .
(٢) الهالوجينات :	
اليود : صبغة اليود (٢٪ يود فى ٧٠٪ ايثانول) كما تستخدم أحيانا مركبات معقدة من اليود .	يرتبط اليود مع البروتينات المحتوية بقايا الحمض الأمينى تيروسين . وهو مادة مطهرة للجلد ويستخدم أحيانا لتطهير المعدات الطبية كما يمكن استخدامه على نطاق ضيق لتطهير المياه بتركيزات منخفضة حيث أنه سام اذا أخذ داخليا ولكنه غير سام عند استخدامه لتطهير الجلد .
الكلورين : غاز الكلور ، أو أحد أملاح الهيبوكلوريت (OCl^-) .	مادة مؤكسدة قوية . يمكن معادلته بالمواد العضوية أو الأمونيا . يستخدم فى تطهير مياه الشرب ، وكذلك لتطهير الأسطح التى تلامس الأغذية ومنتجات الألبان فى مصانع الأغذية والألبان .

تابع جدول ٣ـ١ : أقسام مبيدات الأحياء الدقيقة واستعمالاتها .

المبيدات	تأثيرها
(٣) الكحولات :	
كحول الايثانول أو كحول الايزوبروبانول ، وهى أكثر فعالية فى التعقيم عند تركيز ٥٠ - ٧٠٪ .	الكحولات تذيب الدهون وترسب البروتينات تستخدم لتطهير الجلد ولتطهير المعدات فى المستشفيات .
(٤) الألدهيدات :	
الفورمالدهيد : وهو يوجد فى الأسواق فى صورة محاليل ٣٧٪ (يسمى فورمالين) ويمكن استخدامه بتركيز ٢٪ فى محلول مائى .	وهو يضيف مجموعة الكيل Alkylating agent للمواد العضوية . ويرتبط بمجموعات الأمين $-NH_2$ والكربوكسيل COOH- والسلفدريل SH فى الأحماض النووية والبروتينات ، ويمكن معادلته بالمواد العضوية . يستخدم لحفظ العينات المعملية القابلة للتلف . كما أن حفظ اللحوم والأسماك بالتدخين يعتمد على وجود كميات صغيرة من الفورمالدهيد تنتج أثناء حرق الخشب وتحفظ اللحوم والأسماك .
جلوتار ألدهيد : يستخدم بتركيز ٢٪ محلول مائى $OHC-(CH_2)_3-CHO$	وهو أقل سمية من الفورمالدهيد . ويستخدم فى التعقيم البارد لمعدات المستشفيات ويمكن معادلته بالمواد العضوية .
(٥) أكسيد الايثيلين Ethylene oxide يستعمل كغاز CH_2-CH_2 (حلقة مع O)	وهو يضيف مجموعة الكيل Alkylating agent . شديد السمية . يستخدم فى غرف غاز خاصة لتعقيم كل الأشياء الحساسة للحرارة مثل أطباق بترى البلاستيكية .

تابع جدول ٣ ـ ١ : أقسام مبيدات الأحياء الدقيقة واستعمالاتها .

المبيدات	تأثيرها
(٦) الفينولات : الفينول C_6H_5OH : يستخدم كمحلول مائى ٥ ٪ . كما أن العديد من مشتقات الفينول مع الهالوجينات أو الأكيل أو الهيدروكسيل . . (كالكريزول والثيمول وغيرها) تستخدم للتعقيم أيضا .	ترسب البروتينات وتحدث خلل فى الغشاء الخلوى على تركيزات منخفضة شديدة السمية . يمكن زيادة تأثيره بالصابون ، لا تتأثر الفينولات بالمواد العضوية . يستخدم لتطهير الأسطح الكبيرة القذرة (كالأرضيات والحوائط وغيرها) .
(٧) المنظفات الكاتيونية : حيث تكون أحد المجموعات الجانبية $R{-}\overset{R'}{\overset{\mid}{N^{+}}}{-}R''$ $Cl^{-}R'''$ (R) عبارة عن مجموعة الكيل طويلة السلسلة ، بينما المجاميع (R) الثلاث الأخرى عبارة عن ميثيل بنزيل .	تؤثر على الغشاء الخلوى نتيجة تداخلها مع الغشاء الخلوى . ويمكن معادلتها بالفوسفوليبدات وأيونات المعادن والصابون والمواد العضوية ودرجة pH المنخفضة . تستخدم لتطهير الجلد وتطهير معدات المستشفيات ومعدات مصانع الأغذية والألبان .
(٨) الأوزون O_3 غاز يتم انتاجه فى وقت الحاجة اليه باستخدام فرون جهد مرتفعة .	مادة مؤكسدة قوية . شديدة السمية للانسان . يستخدم لتطهير المياه . يمكن معادلة فعله بالمواد العضوية .

البكتيريا من السوائل تسمى المرشحات البكتيرية Bacterial filters نسبة لصغر حجم ثقوبها عن حجم البكتيريا حيث تؤدى لحجز البكتيريا على أسطحها عند امرار معلقات البكتيريا عليها ٠

وفيما يلي نتعرض لأهم أنواع المرشحات المستخدمة فى فصل الأحياء الدقيقة :

١ـ المرشحات البكتيرية

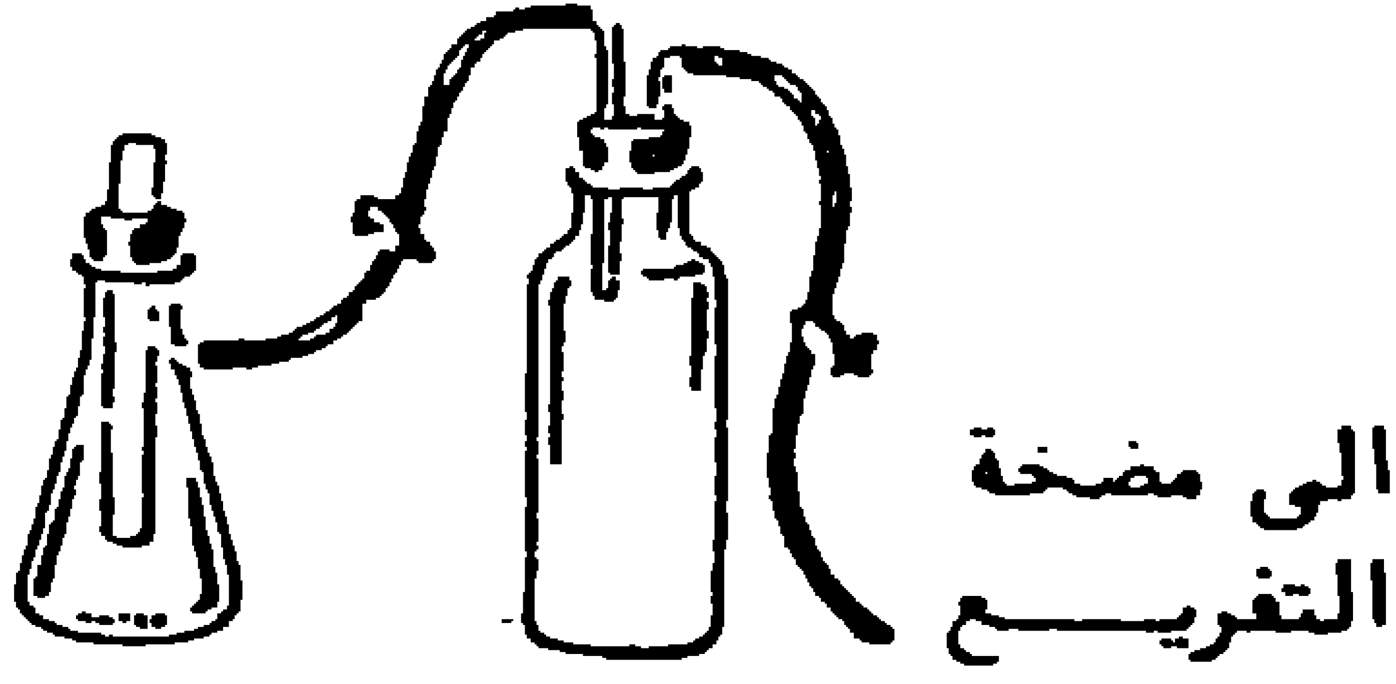
تستخدم المرشحات البكتيرية لتعقيم الهواء والغازات أو لفصل الكائنات الدقيقة الموجودة فى الهواء والغازات وتتكون غالبا من أنابيب تحتوى على قطع من القطن المعقم أو تحتوى على مسحوق السكر والرمل المعقمان ٠

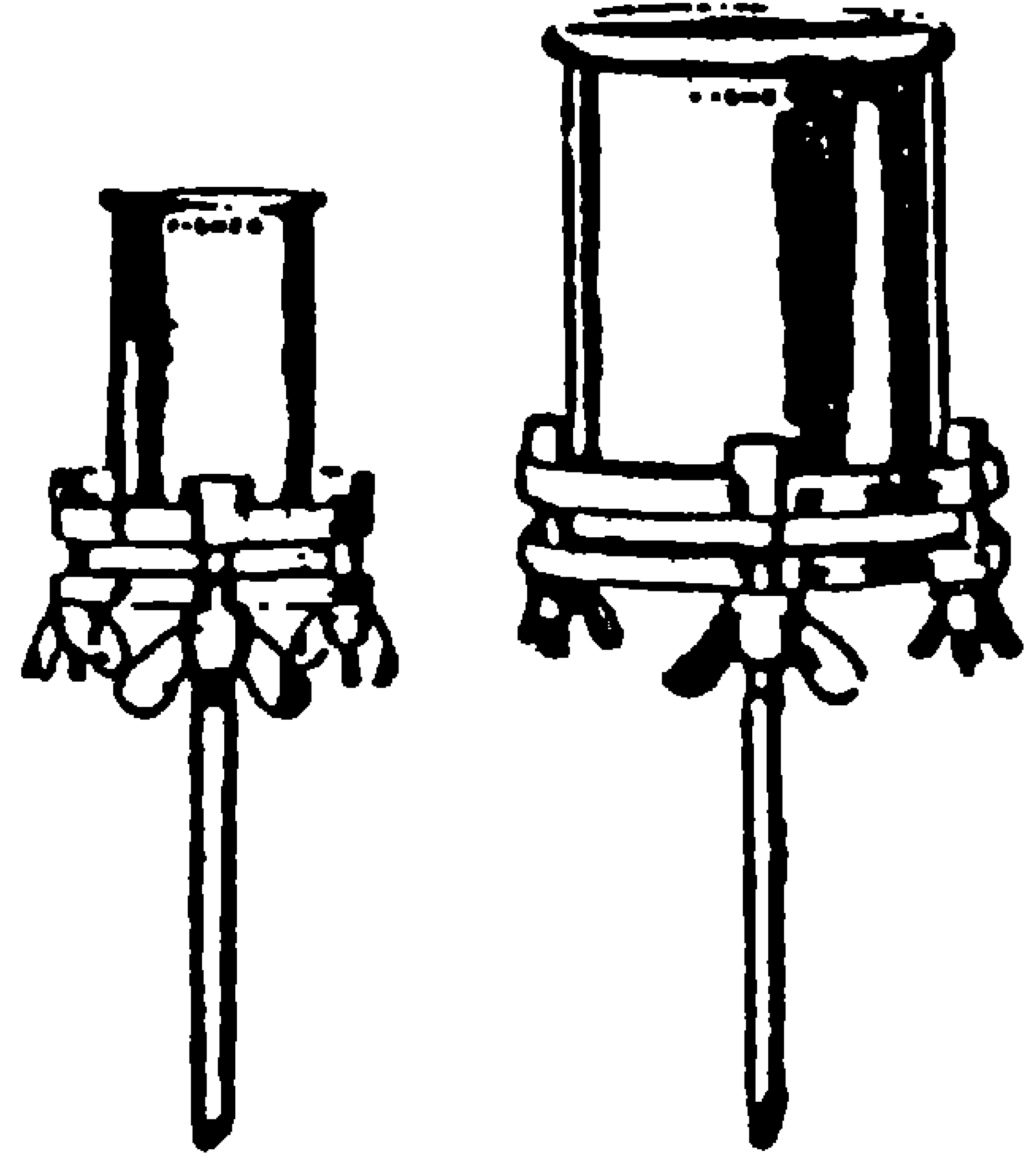
أما السوائل والمستنبتات (البيئات الصناعية) فيستخدم فيها مرشحات ذات مسام صغيرة تحمل شحنات كهربائية وقوى سطحية Surface forces من شأنها ادمصاص البكتيريا على سطحها أو منع البكتيريا من المرور خلالها ٠

ومن أمثلة هذه المرشحات:

أـ مرشح سيتز :Seitz Filter

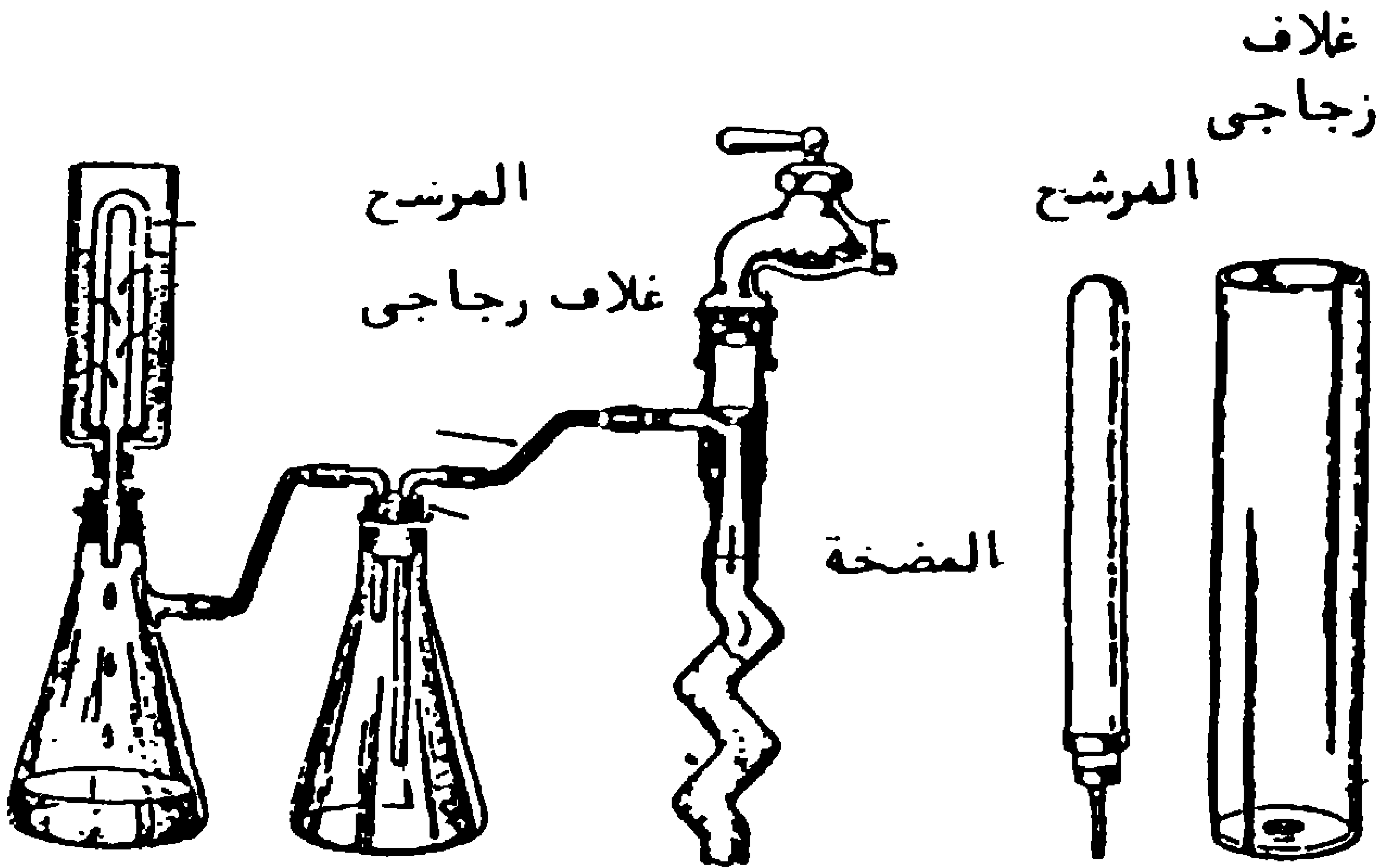
وهو عبارة عن قرص من الأسبستوس مركب على قمع معدني بواسطة مواسك خاصة ويركب هذا القمع على دورق مخروطي ذو ذراع جانبي ، ويجب تعقيم الدورق والمرشح المركب به القرص قبل استعماله ، ويخلخل الهواء من الدورق بواسطة مضخة تفريغ فيمر السائل خلال القرص معقما اياه الى الدورق (شكل ٣ـ٨) ٠ ويعتمد فصل البكتيريا بهذه الطريقة على وجود شحنات كهربية تعمل على ادمصاص البكتيريا ومنع مرورها ٠





شكل ٣ـ٩
مرشح تشمبرلنـد

شكل ٣ـ٨
مرشـــح سيتز



شكـل ٣ـ١٠

أـ مرشح بركفلد

ب ـ طريقة تشغيل مرشح بركفلد

ب ــ مرشح تشمبر لند Chamberland filter:

وهو عبارة عن أسطوانة مصنوعة من الخزف الغير مصقول مفتوحة من طرف واحد ومقفولة من الطرف الآخر • ولاستعماله فى الترشيح توضع الأسطوانة فى دورق باحكام (شكل ٣ــ٩) على أن يكون الطرف المفتوح للخارج الى أعلا ثم يعقم الدورق المركب عليه الأسطوانة معا قبل الاستعمال • وعند الاستعمال يصب السائل المراد ترشيحه داخل الأسطوانة مع توصيل الدورق بماكينة تفريغ • وقد أصبح استعمال هذا النوع نادرا الآن •

جـ ــ مرشح بركفلد Berkefeld filter :

عبارة عن أسطوانة من مواد دياتومية مع الأسبستوس وهى مفتوحة من طرف واحد ومغلقة من الطرف الآخر ، وتوضع عادة داخل دورق على أن تكون الفتحة داخل الدورق ، ويحيط بالأسطوانة غلاف زجاجى • ولتعقيم سائل ما باستخدام هذا المرشح يصب فى الفراغ بين الأسطوانة والغلاف الزجاجى على أن يخلخل الهواء فى الدورق فيمر السائل الى الدورق وتحجز الأحياء الدقيقة على سطح الأسطوانة (شكل ٣ــ١٠) •

ويجب تعقيم المرشح والدورق قبل الاستعمال •

وبعد الاستعمال يجب تنظيف المرشحات ، فالأسطوانات المصنوعة من السليكا يجب حرقها لدرجة الاحمرار وذلك لحرق المواد العضوية المدمصة على سطحها • أما مرشحات بركفلد فيمكن تنظيفها بامرار ماء مضغوط فى عكس اتجاه الترشيح • أما مرشح سيتز فيجب الاستغناء عن قرص الترشيح كل مرة واستخدام قرص جديد •

د ــ المرشحات البكتيرية الغشائية : Bacterial Membrane filters:

يوجد فى الأسواق الآن أنواع عديدة من المرشحات الغشائية

أكثرها شهرة هى مرشحات ملليبور Millipore filters وهى أغشية مصنوعة من استرات السليلوز ، وثقوبها ذات أقطار متماثلة ويوجد عـــدة أنواع من الأغشية ثقوبها ذات سعات مختلفة تتراوح بين ٢ر ـ ٤٥ر ميكـرو ميتر لفصل البكتيريا من معلقاتها • وتستخدم أيضا لفصل البكتيريـــا والخلايا الأخرى عن الفيروسات حيث تمر الفيروسات من خلال ثقـــوب هذه المرشحات وتحجز الخلايا على الغشاء • كما تستخدم هـــذه الأغشية أيضا لعد ميكروبات القولون فى الماء أو لاختبار مدى جـــودة المواد الغذائية من الناحية الميكروبيولوجية • وقد أصبحت هـــذه الأغشية شائعة الاستعمال جدا نظرا لسهولة استعمالها وقلـــة نفقاتها •

٢ ـ المرشحات الفيروسية الغشائية

Virus membrane filters

وهى أغشية بها ثقوب ذات حجم ثابت أصغر من ثقوب المرشحات البكتيرية ... وهذه الأغشية لا تسمح بمرور معظم الفيروسات ، كمـــا تستخدم سلسلة من الأغشية لها ثقوب ذات أقطار مختلفة تتراوح بيـــن ١٠ نانومتير الى ٣ ميكروميتر بهدف قياس حجم الفيروسات•

أساسيات تغذية الأحياء الدقيقة

Principles of microbial nutrition

لكى تنمو الكائنات الحية فانها يجب أن تسحب من البيئة التى تعيش فيها كل المواد اللازمة لبناء مكوناتها وكذلك المواد اللازمة لانتاج الطاقة ، وهذه المواد تسمى مغذيات أو عناصر مغذية Nutrients والمستنبتات (البيئات الصناعية) التى تستخدم لتنمية الكائنات الحية الدقيقة يجب أن تحتوى على جميع العناصر المغذية اللازمة لنمو تلك الكائنات الحية الدقيقة .

ونظرا لاختلاف الكائنات الدقيقة من الناحية الفسيولوجية فان احتياجاتها تختلف اختلافا كبيرا . وقد اقترحت آلاف المستنبتات Media لتنمية الأحياء الدقيقة المختلفة . ووصف هذه المستنبتات لا يشمل الأسباب لوجود المكونات المختلفة فى معظم الأحوال . ولكن تكوين أى مستنبت (بيئة صناعية) لتزريع الأحياء الدقيقة يجب أن يبنى على أسس علمية ، وهى أساسيات التغذية الواجب الالمام بها قبل وصف المستنبتات المختلفة للتزريع .

ان التركيب الكيميائى العام للخلايا ثابت بوجه عام فى كل عالم الأحياء موضحا احتياجات المواد الأساسية للنمو . فالماء يشكل ما بين ٨٠ ــ ٩٠٪ من الوزن الكلى للخلية ، ولذلك فهو عنصر أساسى من عناصر التغذية . المادة الجافة للخلية (جدول ٣ــ٢) تحتوى علاوة على الهيدروجين والأكسجين (وهما ايضا مكونات الماء) على الكربون والنيتروجين والفوسفور والكبريت . وهذه العناصر مرتبه تنازليا من حيث نسبتها العامة فى الكائنات الحية ، وهذه العناصر الستة تكون أكثر من ٩٥٪ من الوزن الجاف للخلية ، وهى تسمى المكونات الكبرى بالاضافة لهذه العناصر يوجد عناصر أخرى بكميات أصغر مثل البوتاسيوم والصوديوم والمغنسيوم والكالسيوم والحديد والمنجنيز والكوبالت والموليبدنم والزنك . والأربع عناصر الأخيرة الموضوع خطا تحتها نسبتها فى الخلية صغيرة جدا ويكون وجودها فى المستنبتات مطلوبا بنسبة آثار فقط ، أما العناصر الأخرى فى السلسلة الأخيرة المذكورة فنسبتها فى الخلية أكبر وان كانت أقل من المكونات الكبرى

جدول ٣ـ٢ : التركيب الأولى التقريبى لخلايا الأحيـاء الدقيقـة ٠

العنصر	نسبته المئوية محسوبة على أساس الوزن الجاف
الكربون	٥٠
الاكسجين	٢٠
النيتروجين	١٤
الهيد روجين	٨
الفوسفور	٣
الكبريت	١
البوتاسيوم	١
الصود يوم	١
الكالسيوم	٥ر٠
المغنسيوم	٥ر٠
الكلورين	٥ر٠
الحديد	٢ر٠
كل العناصر الأخرى الباقية	٣ر٠

ويجب اضافتها لمكونات المستنبت وتسمى المكونات الصغرى . أمـــا العناصر المغذية التى توجد فى صورة آثار فهى توجد عادة مع العناصر الكيميائية الأخرى كمواد ملوثة. وهذه النسبة من المواد الملوثـــة تكون عادة كافية لاحتياجات النمو ، لذلك فهى لا تضاف منفصلة عنـــد اعداد معظم المستنبتات . وتضاف المعادن المختلفة وكذلك الفوسـفور فى صورة املاح . أما احتياجات النيتروجين والكبريت والكربون فسيتـــم مناقشتها منفصلة فيما بعد ، والوظيفة التى يؤديها كل عنصر موضحـــة فى جدول ٣ـ٣) .

علاوة على العناصر المغذية السابقة الذكر تحتاج بعض المجموعات الحية الى احتياجات معدنية أخرى ، فالدياتومات Diatoms وبعـــض الطحالب تكون جدار خلوى غنى فى السليكا ، ولذلك فهما يحتاجـــان الى السيلكون Silicon فى صورة أملاح سليكات ، ورغم أن احتياجـــات الصوديوم لا يمكن توضيحها بسهولة لمعظم الأحياء الدقيقة ، الا أنهـا مطلوبة بتركيز عالى نسبيا لبعض البكتيريا البحرية وبعض البكتيريـــا الخضراء المزرقة وبعض البكتيريا الممثلة للضوء ، ولا يمكن احـــلال الصوديوم فى تلك الحالات بأى عناصر أخرى أحادية التكافؤ Monovalent

احتـــياجات الكـــربون

ان الأحياء ذات القدرة على التمثيل الضوئى والبكتيريا التـــى تحصل على الطاقة من أكسدة المركبات غير العضوية تحصل علـــى احتياجاتها من الكربون فى صورته المؤكسدة CO_2 .

وتحويل ثانى أكسيد الكربون CO_2 الى مواد خلوية تشمل عمليـــات اختزال . وكما هو معروف أن عمليات الاختزال يصحبها دائما امتصاص طاقة بينما تؤدى عمليات الأكسدة الى انتاج طاقة . لذلك فان تحويـــل ثانى أكسيد الكربون الى مواد خلوية يلزمه امتصاص طاقة ، ويحصل الكائن الحى على هذه الطاقة اما من الضوء أو من أكسدة المركبات غير العضوية

جدول ٣ ـ ٣ : الوظائف الفسيولوجية العامة للعناصر الأساسية المختلفة الداخلة فى تركيب الخلايا الحية .

العنصر	الوظائف الفسيولوجية
الهيدروجين	أحد مكونات الماء الخلوى والمادة العضوية فى الخلية .
الأكسجين	أحد مكونات الماء الخلوى والمادة العضوية فى الخلية ، ويعمل كمستقبل للالكترونات فى تنفس الأحياء الهوائية .
الكربون	أحد مكونات المادة العضوية فى الخلية .
النيتروجين	أحد مكونات البروتين والأحماض النووية ومرافقات الانزيمات .
الكبريت	أحد مكونات البروتينات (كالأحماض الأمينية سيستين وميثونين) وبعض مرافقات الانيزيمات
الفوسفور	أحد مكونات الأحماض النووية والفوسفوليبيدات وبعض مرافقات الانزيمات .
البوتاسيوم	كاتيون غير عضوى أساسى فى الخلية ، وهو عامل مساعد لبعض الانزيمات .
المغنسيوم	كاتيون غير عضوى هام فى الخلية ـ عامل مساعد لبعض الانزيمات أحد مكونات الكلوروفيل
المنجنيز	عامل مساعد لبعض الانزيمات ، وأحيانا يحل محل المغنسيوم فى التفاعلات الانزيمية .
الكالسيوم	كاتيون هام فى الخلية . عامل مساعد لبعض الانزيمات مثل الانزيمات المحللة للبروتين .
الحديد	أحد مكونات السيتوكروم وبروتينات الهيم ـ وهو يساعد بعض التفاعلات الانزيمية .
الكوبالت	أحد مكونات فيتامين ب ١٢ وبعض مرافقات الانزيمات .
النحاس والزنك والموليبيد نم .	مكونات معدنية لبعض الانزيمات الخاصة .

أما باقى الأحياء فتحصل على الكربون من المركبات العضويـة ٠ وحيث أن معظم المواد العضوية لها نفس مستوى الأكسدة والاختـزال الذى للمواد الخلوية ، لذلك فلا حاجة لهذه الخلايا لاجراء خطـوة اختزال أولية كما هو الحال فى الكائنات الممثلة للضوء ٠ كما أن هذه الخلايا ـ عادة ـ تستمد الطاقة اللازمة لنموها من المادة العضويـة المستخدمة كمصدر للكربون ٠ لذلك فان نسبة كبيرة من كربون المـادة العضوية يدخل فى تفاعلات انتاج الطاقة منتهيا الى الخروج ثانية مـن الخلية فى صورة ثانى أكسيد الكربون (وهو الناتج الأساسى لعمليـات الأكسدة أثناء التنفس لانتاج الطاقة) أو فى صورة مخلوط من ثانـى أكسيد الكربون والمركبات العضوية (وهذه هى النواتج النهائيـة لعمليات التخمر لانتاج الطاقة) ٠

ولذلك فان المركبات العضوية عادة ما تخدم هدفين فـى التغذية ، فالمركبات العضوية تعمل كمصدر للكربون وكمصدر للطاقة ٠

وعدد من الأحياء الدقيقة يمكنها استعمال مركب عضوى واحـد كمصدر وحيد للكربون والطاقة بينما يحتاج عدد كبير من الأحياء الدقيقة الى أكثر من مركب عضوى واحد ، وقد تحتاج كثير من الأحياء الدقيقة لعدد كبير من المركبات العضوية كعناصر غذائية ٠ وهذه المركبـات العضوية الاضافية تلعب عادة دورا فى عمليات بناء مكونات الخليـة ولا تستخدم كمصدر للطاقة ، ويرجع احتياج الخلية لهذه المواد الاضافية لعدم قدرة تلك الخلية على بنائها وتسمى مثل هذه المواد باسم عوامل النمو Growth factors.

وتختلف قدرة الأحياء الدقيقة على استعمال المركبات العضويـة المختلفة ، فبعضها يمكنها الاستفادة من مصادر عضوية كربونيـة عديدة قد تصل الى ١٠٠ مركب كمصدر للكربون والطاقة كما فى بعـض أفراد بكتيريا سودوموناس Pseudomonas لذلك فهذه البكتيريـا شائعة فى أماكن كثيرة فى الطبيعة ٠

وبعض البكتيريا لا يمكنها الاستفادة الا من مركب عضوى كربونـى

واحد أو اثنين مثل البكتيريا المحللة للسليلوز أو البكتيريا المؤكسدة للميثان (كمصدر للكربون والطاقة) • ومثل هذه الكائنات لا توجد الا فى الأماكن التى توجد فيها هذه العناصر المغذية اللازمة لنموها •

احتياجات النيتروجين والكبريت

يوجد النيتروجين والكبريت فى المواد العضوية الخلوية فى صورة مجموعة الأمين ($-NH_2$) أو مجموعة السلفدريل ($-SH$) المختزلتان • وتحصل معظم الأحياء الدقيقة الممثلة للضوء على هذين العنصرين فى الصورة المؤكسدة فى صورة نيترات Nitrate (NO_3^-) أو كبريتات Sulfate (SO_4^{2-}) لذلك يلزم اجتياز هذه المركبات (النيترات أو الكبريتات) خطوة اختزال أولية فى الخلية قبل تحويلها الى مواد عضوية • ويستطيع عدد من الأحياء الدقيقة القيام بهذه الخطوة ، الا أن البعض من الأحياء الدقيقة لا يمكنه القيام بهذه الخطوة لواحدة أو كلا الاثنين من الأملاح (النيترات ، أو الكبريتات) وفى مثل هذه الحالة يجب استعمال أملاح تحتوى على النيتروجين أو الكبريت أو كلاهما فى صورة مختزلة • والاحتياج للنيتروجين فى الصورة المختزلة شائع نوعا ما ويستخدم له أملاح الأمونيوم • أما الاحتياج للكبريت فى الصورة المختزلة فنادر ويستخدم له أملاح السلفيد (الكبريتيد Sulfide) أو المواد العضوية التى تحتوى على كبريت مختزل مثل الحمض الأمينى سيستين •

كما أن كلا من احتياجات النيتروجين والكبريت يمكن تغطيتها عن طريق استخدام المغذيات العضوية التى تحتوى هذه المركبات فى الصورة المختزلة مثل الأحماض الأمينية أو نواتج تحليل البروتين مثل الببتون Peptones. والببتون فى هذه الحالة يغطى احتياجات الخلية من الكربون والهيدروجين والأكسجين والنيتروجين والكبريت علاوة على كونه مصدرا للطاقة •

كما أن بعض البكتيريا يمكنها استعمال أكثر صور النيتروجين

شيوعا فى الطبيعة وهى النيتروجين الغازى (N_2) وتسمى عمليات تحويل النيتروجين الغازى الى مركبات خلوية باسم تثبيت النيتروجين او التثبيت الأزوتى Nitrogen fixation وتشمل خطوة اختزال أولية لتحويل N_2 الى أمونيا .

عوامل النمو Growth factors :

تحتاج بعض الأحياء الدقيقة الى مركبات عضوية (لا تقدر على بنائها بنفسها) تستخدمها لبناء مكونات الخلية - وهذه المواد العضوية يجب اضافتها فى المستنبتات أو وجودها فى بيئتها الطبيعية حتى يمكن لتلك الأحياء الدقيقة النمو . وهذه المواد تسمى عوامل النمو Growth factors .

ويمكن تقسيم عوامل النمو الى ثلاث أقسام وفقا لتركيبها ووظيفتها الحيوية :

* الأحماض الأمينية تحتاجها الخلية كمكونات للبروتين .
* البيورينات والبريميدينات تحتاجها الخلية كمكونات للأحماض النووية .
* الفيتامينات وهى مجموعة مواد عضوية تعمل كمرافقات لانزيمات معينة ... أو كمراكز للنشاط لانزيمات أخرى (جدول ٣-٤) .

وحيث أن عوامل النمو تغطى احتياجات خاصة لبناء مكونات الخلية ، فهى عادة تلزم الخلية بكميات صغيرة مقارنة باحتياجات الخلية من مصدر الكربون الذى يمد الخلية بجميع الكربون الخلوى . فمثلا البروتين مكون من حوالى ٢٠ حمض أمينى مختلف ، فاذا كانت الخلية غير قادرة على بناء حمض أمينى واحد فيكون واضحا أن احتياج الخلية من الحمض الأمينى هذا أقل كثيرا من احتياج الخلية للبروتين أو احتياج الخلية لمصدر الكربون ، كما أن احتياج الخلية من الفيتامينات يكون أيضا أقل حيث تستعمل الفيتامينات كمرافقات لانزيمات محدودة معينة ،

جدول ٣ـ٤ : العلاقة بين بعض الفيتامينات القابلة للذوبان في الماء وبعض مرافقات الانزيمات ..

التفاعل الانزيمي الذى يشمل مرافق الانزيم	مرافق الانزيم	الفيتامين
نزع الهيدروجين Dehydrogenation	بيريدين نيوكليوتيد (NAD, NADH)	حمض النيكوتينيك (النياسين)
نزع الهيدروجين ونقل أزواج الالكترونات	فلافين نيوكليوتيد (FAD, FMN)	الريبوفلافين (فيتامين ب ٢)
نزع مجموعة الكربوكسيل وبعض تفاعلات نقل المجموعات .	ثيامين بيروفوسفات (Cocarboxylase)	الثيامين (فيتامين ب ١)
تمثيل الأحماض الأمينية - نقل مجموعة الأمين أو نزعها أو نزع مجموعة الكربوكسيل .	بيريدوكسال فوسفات	بيريدوكسيد (فيتامين ب ٦)
أكسدة الأحماض الكيتونية . تمثيل الأحماض الدهنية .	مرافق الانزيم أ (CoenzymeA)	حمض البانتوثنيك
نقل مجموعة تحتوى على ذرة كربون واحدة .	حمض تترا هيدروفوليك	حمض الفوليك
تثبيت ثاني أكسيد الكربون . ونقل مجموعة الكربوكسيل .	المجموعة النشطة لأنزيمات البيوتين	بيوتين
تفاعلات اعادة ترتيب الجزيئات .	مرافقات أنزيمات كوباميد Cobamide coenzyme	كوباميد (فيتامين ب ١٢)

والجدول (٣ـ٤) يوضح أهمية بعض الفيتامينات لبعض الانزيمات.

دور الأكسجين في التغذية

الأكسجين هو أحد مكونات الماء الخلوى وكثير من المواد العضوية في الخلية . لذلك يجب امداد الكائنات الدقيقة بكميات كبيرة منه كأحد المكونات الكبرى . وتأخذ الأحياء الدقيقة كثير من احتياجاتها من الأكسجين في صورة ماء أو مواد عضوية ، ولكن معظم الأحياء الدقيقة تحتاج للأكسجين الغازى (O_2) وهذه الأحياء تعتمد في معيشتها على التنفس الهوائى للحصول على احتياجاتها من الطاقة حيث يعمل الأكسجين كمستقبل نهائى لزوج الالكترونات في نهاية سلسلة نقل الالكترونات Electron transport system وتسمى هذه الكائنات الحية باسم الأحياء الدقيقة الهوائية الحتمية Obligate aerobic.

وعلى العكس من ذلك فان هناك مجموعة من الأحياء الدقيقة لا يعتبر الأكسجين الغازى عنصرا غذائيا لها ، بل انه يعتبر قاتلا أو مثبطا للنمو لبعضها ، وهى تلك الأحياء التى يطلق عليها الأحياء الدقيقة اللاهوائية الاجبارية (الحتمية) Obligate anaerobic.

وهناك مجموعة ثالثة من الأحياء الدقيقة تسمى باللاهوائية الاختيارية Facultative anaerobic وهى تستطيع النمو في وجود أو غياب الأكسجين الغازى (O_2) وهذه المجموعة تنقسم من ناحية التمثيل الغذائى الى قسمين :

<u>القسم الأول</u> : تنمو لا هوائيا باستمرار ولكنها لا تتأثر بوجود الأكسجين مثل بكتيريا Lactic acid Bacteria حمض اللاكتيك.

<u>القسم الثانى</u>: تنمو هوائيا في وجود الأكسجين وتنمو لا هوائيا (بالتخمر) في غياب الأكسجين مثل كثير من الخمائر Yeasts وبكتيريا القولون *E. coli*.

والمجموعة الرابعة من الأحياء الدقيقة يكون نموها أفضل ما يمكن في وجود كميات صغيرة من الأكسجين (بضغط جزئي يقل عن الضغط الجزئي للأكسجين في الهواء الجوي) . ورغم أن الأكسجين اجباري لنموها فهي لا تستطيع النمو في غياب الأكسجين كلية وتسمى هذه المجموعة بميكروبات تحتاج لكميات صغيرة من الهواء Microaerophilic ويؤدي وجود تركيزات عالية من الأكسجين الى اتلاف بعض انزيمات هذه المجموعة من الأحياء الدقيقة .

أقسام الأحياء الدقيقة وفقاً لاحتياجاتها من الكربون والطاقة

قسم علماء الأحياء Biologists جميع الكائنات الحية _ من زمن طويل _ الى :

١_ الكائنات الحية ذاتية التغذية : Autotrophs :

وهذه يمثلها النباتات وهي تلك الكائنات التي تتغذى بصورة كاملة على أغذية غير عضوية وتعتمد على ثاني أكسيد الكربون كمصدر للكربون ولا تحتاج لأى مواد عضوية .

٢_ الكائنات الحية غير ذاتية التغذية :Hetrotrophs :

وهذه يمثلها الحيوانات ... وهي تحتاج الى مركبات عضوية للتغذية عليها .

وكذلك .. فقد قسم العلماء كلا من هذين القسمين الى قسمين آخرين لتكوين أربعة أقسام رئيسية وفقا لمصادر الطاقة والكربون كالآتي :

(١) الأحياء ذاتية التغذية ضوئيا (الممثلة للطاقة الضوئية)
Photoautotrophic organism

وهي تلك الكائنات التي تعتمد على ثاني أكسيد الكربون CO_2 كمصدر للكربون وعلى الضوء كمصدر للطاقة .

(٢) الأحياء ذاتية التغذية كيميائيا (الممثلة للطاقة الكيميائية) Chemoautotrophic organisms.

وهى تلك الكائنات التى تعتمد على ثانى أكسيد الكربون CO_2 كمصدر للكربون وعلى الطاقة الناتجة من التفاعلات الكيميائية (مثل تفاعلات الأكسدة) كمصدر للطاقة . ومن أمثلة هذه الكائنات تلك التى تؤكسد المركبات التالية للكبريت S وكبريتور الأيدروجين H_2S والأيدروجين H_2 وأملاح النيتريت NO_2^- وأملاح الأمونيا NH_3^- والثيوسلفات $S_2O_3^=$ وأملاح الحديدوز كمصدر للطاقة . وأهمية هذه المجموعة تنبع من أنها تنمو فى الظلام على مستنبت (بيئة صناعية) خالية من المواد العضوية ومكونة فقط من أملاح معدنية ، وتسمى هذه الأحياء احيانا باسم Chemolithotrophic .

(٣) الأحياء غير ذاتية التغذية الممثلة للطاقة الضوئية :
Photohetrotrobhic organisms

وهى تلك الأحياء التى تعتمد على المركبات العضوية كمصدر للكربون وتعتمد على الضوء كمصدر للطاقة ، وهى عادة تتغذى على مواد عضوية فى الظلام وتقوم بتثبيت ثانى أكسيد الكربون فى الضوء .

(٤) الأحياء غير ذاتية التغذية الممثلة للطاقة الكيميائية :
Chemo hetrotrphic organisms

وهى تلك الأحياء التى تعتمد على المركبات العضوية كمصدر للكربون ، وتعتمد على الطاقة الناتجة من التفاعلات الكيميائية كمصدر للطاقة . وغالبا ما تعتمد هذه الكائنات على المركبات العضوية كمصدر للكربون والطاقة معا . وتشمل هذه المجموعة عددا كبيرا من البكتيريا ، وكل الفطريات والبروتوزوا والميتازوا .

ويمكن تقسيم هذا القسم الأخير من الأحياء الدقيقة الى قسمين بناء على الصورة الفيزيائية (الطبيعية) للعناصر المغذية عند دخولها الخلية :

أ ـ الكائنات التى تتناول غذائها بالانتشار خلال الغشاء

الخلوى : Osmotrophs :

وتشمل معظم البكتيريا والفطريات. وتتناول غذائها فى صـــــورة ذائبة بالانتشار خلال الغشاء الخلوى.

ب ـ الكائنات التى تتناول غذائها بالابتلاع Phagotrophs :

وتشمل معظم البروتوزوا . وهى تتناول غذائها فى صورة صلبـــــة بالابتلاع Phagocytosis.

وقد يضاف أحيانا التعبير (اجبارى Obligate) لأى قســـم من الأقسام الأربعة السابقة للتعبير عن حتمية التغذية بالطريقـــــــة المذكورة فى كل قسم ، فمثلا الكائنات الحية من نوع Obligate Photoautotrophic لا تنمو الا بوجود الضوء كمصدر للطاقة وثانى أكسيـــد الكربون كمصدر للكربون . وقد يستخدم التعبير (اختيارى Facultative للتعبير عن عدم حتمية التغذية بالطريقة المذكورة وامكانية الانتقـــــال الى نوع آخر من التغذية.

وبالاضافة للتعريفات السابقة فانه يلزم هنا الاشارة الى تعبيرين آخرين وهما الاستغناء التام عن عوامل النمو Prototrophy والاحتيـــاج لعوامل النمو Auxotrophy.

١ ـ الأحياء الدقيقة غير المحتاجة لعوامل النمو Prototroph:

تعنى أن الكائن الحى الدقيق يستطيع بناء جميع مكونات خليته من مصدر الكربون الرئيسى دون الاحتياج لأى عوامل نمو.

٢- الأحياء الدقيقة المحتاجة لعوامل النمو Auxotroph:

تعنى أن الكائن الحي الدقيق يحتاج علاوة على المصدر الرئيسى للكربون الى واحد أو أكثر من عوامل النمو المختلفة من المواد العضوية . وقد يستخدم أحد التعبيرين السابقين على أيا من الأحياء التابعة لأى من الأقسام الأربعة السابقة.

فيمكن تمثيل الـ Auxotrophy بالاحتياج المطلق لأحد الفيتامينات بواسطة أحد الأحياء الدقيقة من البكتيريا ذاتية التغذية ضوئيا أو غير ذاتية التغذية كيميائيا .

تكوين مستنبتات الزرع

The construction of culture media

لتكوين مستنبت لتزريع أى نوع من الأحياء فان الهدف الأساسى يكون الحصول على مخلوط متزن من العناصر الغذائية المختلفة لتسمح بنمو جيد . وربما يبدو للوهلة الأولى أن عمل مستنبت غنى بالعناصر المغذية الى أقصى ما يمكن (مما يجعل العناصر الغذائية أكثر من اللازم) سيؤدى الى الحصول على نمو غزير فى وقت زمنى قصير ولكن ذلك ليس صحيحا . حيث أن العناصر المغذية عند زيادة تركيزها فى المستنبت تصبح مثبطة للنمو أو حتى أحيانا سامة ، وهذا صحيح فى حالة استخدام الأحماض العضوية والأملاح والأحماض الدهنية والسكريات فى المستنبت ، فعند زيادة تركيزها عن اللازم يكون لها تأثير مثبط أو قاتل . كما أن وجود المغذيات بتركيزات عالية حتى وان أدت الى بعض النمو فان مخلفات النمو كالكحولات والأحماض العضوية وغيرها تكون أيضا مركزة وتؤدى الى تثبيط النمو أو ايقافه بسرعة . وحيث أن هدف تنمية الأحياء الدقيقة لابد وأن يكون متمشيا مع كون هذا النمو نموا طبيعيا صحيا ، فانه من الحكمة دائما أن يحدد النمو بجعل المغذيات فى البيئة الصناعية محدودة . ويوضح الجدول (٣-٥) تركيب عدد من المستنبتات (البيئات الصناعية) المتزايدة فى التعقيد.

جدول ٣ـ٥ : تركيب عدد من المستنبتات (البيئات الصناعية) المتزايدة التعقيد ٠

مكونات عامة لكل المستنبتات الأربعة ٠	مكونات اضافية			
	مستنبت ١	مستنبت ٢	مستنبت ٣	مستنبت ٤
ماء ١ لتر فوسفات بوتاسيوم ثنائية ١جم كبريتات مغنيسيوم ٢٠٠ ملليجم ٠ كبريتات الحديدوز ١٠ ملليجم كلوريد الكالسيوم ١٠ " معادن في صورة آثار منجنيز ـ موليبدنم ـ كوبالت زنك كأملاح معدنية ٠٢ رـ٥ر ملليجم ٠	كلوريد أمونيوم ١ جم	جلوكوز ٥جم كلوريد أمونيوم ١ جم	جلوكوز ٥جم كلوريد أمونيوم ١ جم حمض نيكوتينيك ١ر ملليجم ٠	جلوكوز ٥جم مستخلص خميرة ٥ جم

تقسيم مستنبتات الزرع :

١ ـ مستنبتات محددة التركيب الكيميائى Chemically defined media

تتكون من مواد ذات تركيب كيميائى محدد وهى مكونة من أساس أو قاعدة من أملاح معدنية Mineral base لتزويد أى كائن حى دقيق بالعناصر المغذية المعدنية ، ويضاف لهذا الأساس Base اذا كان مرغوبا فى ذلك ـ مصدر للكربون والطاقة ومصدر للنيتروجين وأى عوامل نمو . وهذه المواد الاضافية ـ بالطبع ـ تختلف على حسب الخواص الغذائية للكائن الحى المرغوب تنميته .

ونظرا لأن التركيب الكيميائى لكل مكونات المستنبت تكون معروفة ومحددة فانه يمكن تكرار تجهيز مثل تلك المستنبتات بنفس الدقة فى كل مرة من مرات التحضير .

ولعل ذلك من أهم مميزات المستنبتات محددة التركيب الكيميائى مما أدى الى استعمالها فى دراسة المتطلبات الغذائية لأنواع البكتيريا المختلفة .

٢ ـ مستنبتات غير محددة التركيب الكيميائى

Chemically nondefined medium

وهى مستنبتات تتكون من مواد غير محددة التركيب مثل مستخلص اللحم Beef والدم والببتون Peptone ومستخلص الخميرة Yeast extract وكل هذه المواد ليس لها تركيب دقيق محدد . ويختلف تركيبها باختلاف المادة الطبيعية المستعملة لانتاجها . لذلك يكون من الصعب تكرار تحضير مثل هذه المستنبتات بنفس التركيب بنفس الدقة فى كل مرة من مرات التحضير .

هذا ... ويمكن أيضا تقسيم المستنبتات على حسب الغرض منها الى :

١ــ المستنبتات الانتخابية : Selective media

كما يبدو واضحا الآن أنه لا يوجد مستنبت واحد أو مجموعة ظروف واحدة تصلح لنمو كل الأحياء الدقيقة الموجودة في الطبيعة ، لذلك فمن المعقول أن نذكر بأن كل مستنبت هومستنبت اختياري ــ الى حد ما ــ أى يسمح بنمو كائنات معينة ، ولا يسمح بنمو كائنات أخرى . فاذا لقح أى مستنبت بمخلوط من الأحياء الدقيقة فان الأحياء التى تناسبها ظروف المستنبت فقط هى التى تنمو ، وأما الأحياء الأخرى فلا تنمو .

لذلك فانه اذا أريد عزل كائن دقيق معين من الطبيعة فان معرفة خواصه الغذائية تساعد كثيرا فى عزله حتى وان كانت نسبة وجوده صغيرة ، وذلك باعداد مستنبت مدعم بالمغذيات أو ظروف خاصة Enrichment medium لهذا الكائن الحى الدقيق ويساعد على نموه هو دون الأحياء الأخرى ، أو بالعزل المباشر على احدى المستنبتات التى تسمح بنمو عدد كبير ثم العزل منها كما سبق أن أشرنا بالأطباق المصبوبة أو الأطباق المخطوطة ، والعزل بالأطباق المخطوطة أو المصبوبة قد لا ينجح فى عزل بعض الكائنات التى تكون نسبة وجودها صغيرة . أما طريقة الدعم بمغذيات أو بظروف خاصة Enrichment فتكون أكثر نجاحا فى مثل هذه الحالة . فمثلا اذا أريد عزل كائن دقيق هوائى من النوع ذاتى التغذية كيميائيا Chemoautotroph وهو كائن يعتمد على CO_2 كمصدر للكربون ولا يمثل الضوء ويحصل على الطاقة من التفاعلات الكيميائية . فى مثل هذه الحالة يمكن اعداد مستنبت مكون من قاعدة من الأملاح المعدنية Mineral base دون اضافة أى مركبات عضوية ثم تحضينه مع مصدر الميكروبات فى مكان مظلم ، وهكذا ...

٢ــ مستنبتات تفريقية Differential media

وهى مستنبتات يضاف اليها مواد كيميائية أو تعرض لظروف طبيعية تسمح بالتمييز بين نمو المجاميع المختلفة من البكتيريا ، فمثلا

تستخدم بيئة آجار الدم للتفريق بين مجاميع البكتيريا التى تحلل الدم Hemolytic فيظهر حول البكتيريا المحللة للدم هالة رائقة فى حين أن الهالة الرائقة لا تظهر فى حالة البكتيريا التى لا تحلل الدم ، ويمكن بذلك التفريق بين البكتيريا المحللة للدم Hemolytic وغير المحللة له Non hemolytic.

كما يستخدم مستنبت آجار الايوسين - أزرق الميثلين للتميز بين بكتيريا القولون التى تظهر فى مستعمرات قطرها يتراوح بين ٢-٣ مليمتير وذات مركز أسود وبريق معدنى مخضر Greenish metallic sheen وذلك فى الاختبار التأكيدى للكشف عن بكتيريا القولون .

٣- مستنبتات التقدير الحيوى Biological assay media

وهى نوع من المستنبتات محددة التركيب الكيميائى تستعمل لأغراض التقدير الكمى الحيوى لنوع معين من أنواع الفيتامينات أو الأحماض الأمينية أو غيرها بطريقة حيوية . وينمى عليها سلالات من البكتيريا تحتاج هذه الفيتامينات أو غيرها من المواد اللازمة للنمو ، وتقاس كمية الفيتامين بكمية النمو البكتيرى .

٤- مستنبتات اظهار وزرع البكتيريا

Media for enumeration of Bacteria

وهى مستنبتات معينة محددة أو غير محددة التركيب تستخدم لتقدير عدد البكتيريا فى عينات مختلفة كالماء أو اللبن أو الأغذية المختلفة . ويوجد أنواع عديدة منها فى الأسواق .

٥- مستنبتات التعرف على خواص الأحياء الدقيقة

Media for characterization of microorganisms

وهى مستنبتات يمكن عن طريقها تحديد خواص الأحياء الدقيقة من حيث قدرتها على النمو على تركيزات عالية من السكر او الملح او من

حيث قدرتها على استعمال مواد معينة كمصدر للكربون أو النيتروجين أو من حيث قدرتها على النمو في وجود صبغات أو مضادات حيوية معينة.

كما يمكن تقسيم المستنبتات المستخدمة في الزرع على أساس قوامها الى :

١ـ مستنبتات صلبة Solid media

مثل شرائح البطاطس والجزر .

٢ـ مستنبتات صلبة قابلة للاسالة Media with solidifying agents

مثل المستنبتات التي يدخل في تركيبها الآجار والجيلاتين .

٣ـ مستنبتات نصف صلبة Semisolid media

وهي تحتوى على كميات صغيرة من الآجار لا تزيد عن ربع الكمية التي تضاف للمستنبتات الصلبة القابلة للاسالة .

٤ـ مستنبتات سائلة Liquid media

مثل مستنبت اللبن أو المرق المغذى .

هذا ويضاف الى المستنبتات السائلة بعض المواد لتساعد على تحويلها الى الحالة الصلبة عند تبريدها وتسمى هذه المواد بالمواد التصلبية Solidifying agents وعند اضافة المواد التصلبية الى المستنبت السائل فانه يتحول الى مستنبت صلب قابل للاسالة والمستنبت الصلب يهيىء سطح مستوى يصلح لزرع الأحياء الدقيقة وتنميتها عليه في شكل مستعمرات فردية يسهل عزلها في حالة نقية .

المواد التصليبية الشائعة الاستعمال :

١ـ الآجار آجار Agar Agar :

هو مادة كربوهيد راتية تستخلص من بعض الطحالب البحرية الحمراء وتنمو بوفرة على سواحل اليابان · والآجار آجار ذو درجة عالية من الثبات ، ويمكن تنمية أنواع كثيرة جدا من الكائنات الدقيقة عليه دون خوف من تحلله ، ولكن وجد أن عددا محدودا من أنواع الأحياء الدقيقة تستطيع تحليل الآجار مائيا · ومن مزايا الآجار أنه لا يتأثر بدرجات حرارة التعقيم في المعقم (الأتوكلاف) اذا كانت الظروف متعادلة أو حتى خفيفة الحموضة ، ولكن تعريض الآجار الموجود في — ظروف — شديدة الحموضة — لدرجة حرارة التعقيم يؤدى الى تحلله مائيا ، وعدم تصلب المستنبت بعد التبريد · لذلك عند تحضير المستنبتات ذات درجة الـ pH المنخفضة والمستخدمة لعزل الخمائر وبعض الفطريات من مزارع مختلطة بالبكتيريا فانه يفضل تعقيم المستنبت مع الآجار بمفرده قبل اضافة الحمض · ثم يضاف الحمض بعد التعقيم وقبيل تجمد المستنبت·

وعادة يضاف الآجار بنسبة ٥ر١ ـ ٢٪ وعند هذا التركيز لا يسيل الآجار المتصلب قبل ٩٨ºم والآجار السائل لا يتجمد حتى تصل درجة الحرارة الى ٤٥ºم واذا تجمد لا يسيل ثانية قبل درجة ٩٨ºم · لذلك بعد تجمده يمكن تحضين الآجار على درجة حرارة مرتفعة دون الخوف من انصهاره ·

٢ـ الجيلاتين : Gelatin :

استعمل الجيلاتين لتصليب مستنبتات الزرع قبل الآجار بزمن طويل ، ولكن الآن قل استعماله نتيجة لانصهاره على درجات حرارة منخفضة مقارنة بالآجار كما أنه يتحلل نتيجة فعل الانزيمات البروتينية التى تنتجها العديد من الكائنات الدقيقة ، ويشيع استعمال الجيلاتين فقط لاختبار قدرة الأحياء الدقيقة على انتاج الانزيمات المحللة للبروتينات فقط · فالجيلاتين عبارة عن مادة بروتينية تحضر بمعاملة عظام الحيوانات

بحمض الهيدروكلوريك لاذابة كربونات وفوسفات الكالسيوم والحصول على مادة الكولاجين Collagen التى تتحول الى جيلاتين بمعاملتها بالماء المغلى ، وعندما يبرد المخلوط الساخن فانه يكون مادة هلامية تقطع وتجفف بالهواء البارد .

والجيلاتين يذوب فى الماء المغلى ولا يذوب فى الماء البارد ويضاف الى مستنبتات الزرع بنسبة ١٠ ـ ١٢ ٪ . واذا ارتفعت الحرارة الى ٢٥ ـ ٣٠ °م فانه ينصهر . ولكن اذا برد المخلوط مرة ثانية فانه يتصلب ، ولكن اذا رفعت درجة الحرارة أكثر من ١٠٠ °م فانه ينصهر ولا يتصلب ثانية حتى لو خفضت درجة الحرارة . والجيلاتين يتحلل مائيا فى الوسط القلوى أو الحمضى على درجة الحرارة العالية .

٣ ـ السليكا Silica :

وهى مادة تصليب غير قابلة للاسالة وتحضر بتحميض محلول من سليكات الصوديوم Sodium silicate (الزجاج المائى Water glass) بواسطة حمض الهيدروكلوريك أو حمض الفوسفوريك فيتكون حمض السليسيك Silicic acid الذى يتخذ القوام الهلامى Gel عند درجة حرارة الغرفة ، وعندما تتصلب هذه المادة الهلامية فانها لا تسيل مرة أخرى .

وتصب هذه المادة فى أطباق بترى ، وبعد أن تتصلب يغسل بالماء لمدة كافية لازالة أملاح الصوديوم الزائدة . ثم يعقم سطح السليكاجل باللهب Flaming . ثم تضاف بعد ذلك المواد الغذائية المعقمة فى صورة محاليل مركزة ، وهذه تنتشر بسرعة ، والسليكاجل ليست مادة مغذية ، لذلك فهى تستعمل فى تحضير البيئات اللازمة لتنمية الأحياء الدقيقة ذاتية التغذية وذلك لمنع نمو الكائنات الدقيقة غير ذاتية التغذية والتى قد تنمو معها عند استعمال مواد عضوية وكذلك لتجنب التأثير المثبط للمواد التصليبية العضوية كالآجار والجيلاتين والتى يؤثر وجودها على نمو بعض الأحياء ذاتية التغذية .

قياس وضبط درجة الأس الأيدروجيني pH والتحكم فيها :

ان درجة الأس الأيدروجيني والمتعارف عليها pH تمثل طريقة مناسبة للتعبير عن تركيز أيون الأيدروجين (H^+) في المحاليل المائية.

وتعرف الـpH على أنها اللوغاريتم السالب لتركيز أيون الأيدروجين مقدرا بالمول / لتر

$$pH = Log \frac{1}{(H^+)}$$

وعلى ذلك يمكن حساب الأس الأيدروجيني pH لمحلول مائي لحمض قوى (كامل التأين) تركيزه ١ر٠ عيارى فيكون تركيز أيون الأيدروجين في المحلول مساويا (١ر٠ عيارى) أيضا .. وبالتالى يكون تطبيق المعادلة السابقة كما يلى :

$$pH = Log \frac{1}{(H^+)} = Log \frac{1}{0.1} = Log\ 10 = 1$$

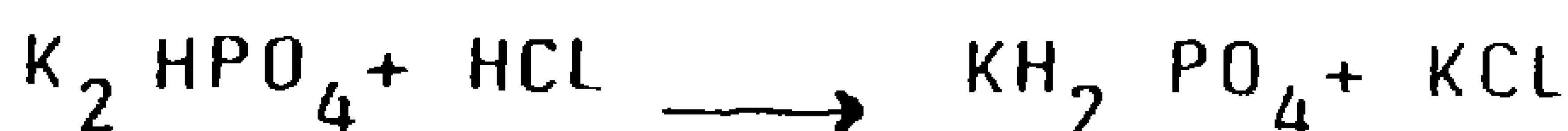
ومقياس pH العددى يتراوح بين صفر الى ١٤ كما في جدول (٣ـ٦) ويجب ضبط درجة الأس الأيدروجيني pH لأى مستنبت (بيئة صناعية) لكى تكون مناسبة لنمو الأحياء الدقيقة التى ستنمو على هذا المستنبت وليس هذا فحسب ، فالمستنبت يجب أن يقاوم التغير في درجة pH عند نمو الأحياء الدقيقة عليه .

فبالرغم من أن مستنبت معين قد يكون مناسبا لبدء النمو الا أنه سرعان ما يتوقف نمو الكائنات الدقيقة عليه نتيجة للتغيرات الكيميائية التى تحدث في المستنبت نتيجة لنمو الكائنات الدقيقة وانتاجها لمواد تعمل على تغيير درجة الـ pH للمستنبت وقد تتغير درجة الـ pH في المستنبت بسبب انتاج أحماض عضوية من السكريات أو استهلاك أحماض موجودة أساسا في المستنبت أو تكسير البروتينات وانتاج أمونيا الى غير ذلك من التغيرات التى تحدثها الأحياء الدقيقة في المستنبتات.

جدول ٣ـ٦ : تدرج درجة الأس الأيدروجينى مـــع ايضاح الحموضة والقلويـــة ٠

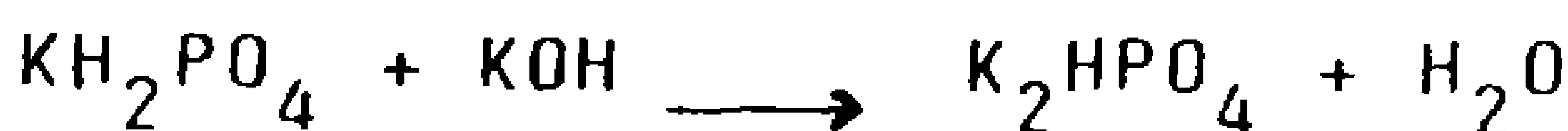
تركيـــز أيون الهيدروكسيـــل		درجة الأس الأيدروجينى pH	تركيز أيون الأيدروجين	
الحموضـــــــة				
	$١٠^{-١٤}$	صفر	$١٠^{٠}$	= ١ر٠
	$١٠^{-١٣}$	١	$١٠^{١}$	٠ر١
	$١٠^{-١٢}$	٢	$١٠^{٢}$	٠ر٠١
غير قلـوي	$١٠^{-١١}$	٣	$١٠^{٣}$	٠ر٠٠١
٠	$١٠^{-١٠}$	٤	$١٠^{٤}$	٠ر٠٠٠١
	$١٠^{-٩}$	٥	$١٠^{٥}$	٠ر٠٠٠٠١
	$١٠^{-٨}$	٦	$١٠^{٦}$	٠ر٠٠٠٠٠١
٠ر٠٠٠٠٠٠١ نقطة تعادل (ماء نقى)		٧	نقطة تعـادل $١٠^{٧}$	٠ر٠٠٠٠٠٠١ (ماءنقى)
٠ر٠٠٠٠٠١	$١٠^{-٦}$	٨	$١٠^{٨}$	
٠ر٠٠٠٠١	$١٠^{-٥}$	٩	$١٠^{٩}$	
٠ر٠٠٠١	$١٠^{-٤}$	١٠	$١٠^{١٠}$	
٠ر٠٠١	$١٠^{-٣}$	١١	$١٠^{١١}$	غيرحمضي
٠ر٠١	$١٠^{-٢}$	١٢	$١٠^{١٢}$	
٠ر١	$١٠^{-١}$	١٣	$١٠^{١٣}$	
١ر٠	$١٠^{٠}$	١٤	$١٠^{١٤}$	
القلويـــــــة				

لمنع ذلك التغير فى درجة الأس الأيدروجينى p^H تستخدم محاليل مائية منظمة Buffers تتكون من خليط من أحماض ضعيفة وأملاحها أو قواعد ضعيفة وأملاحها وذلك يتوقف على درجة الأس الأيدروجينى pH المرغوبة ، وعلى سبيل المثال يستخدم محلول منظم الفوسفات المكون من مخلوط من فوسفات البوتاسيوم أحادية الأيدروجين وفوسفات البوتاسيوم ثنائية الأيدروجين ، فعندما ينتج فى المستنبت ذو المحلول المنظم أحماض فان جزء من الفوسفات أحادية الأيدروجين تتحول الى فوسفات ثنائية الأيدروجين مع أقل تغيير ممكن فى درجة ال pH



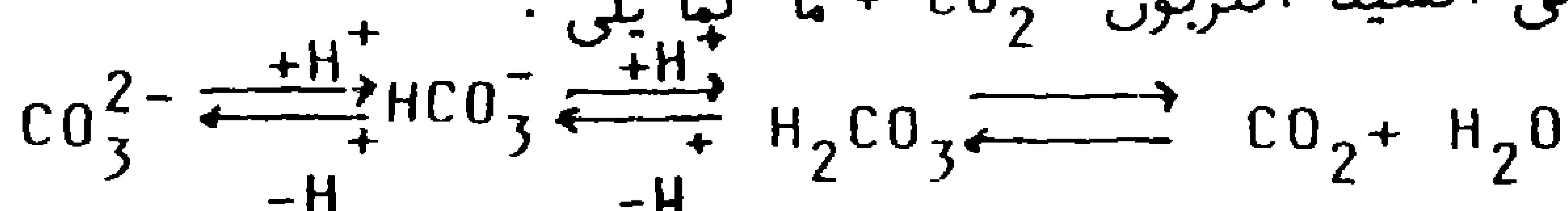
$$K_2HPO_4 + HCL \longrightarrow KH_2PO_4 + KCL$$

وعلى العكس من ذلك فان انتاج مواد قلوية فى المستنبت المنظم فان جزء من الفوسفات ثنائية الأيدروجين تتحول الى فوسفات أحادية الأيدروجين مع مقاومة التغيير فى درجة ال pH قدر الامكان .



$$KH_2PO_4 + KOH \longrightarrow K_2HPO_4 + H_2O$$

أما المستنبتات التى يتوقع انتاج كميات كبيرة من الأحماض فيها أثناء نمو الكائنات الدقيقة فيمكن تنظيم درجة الأس الأيدروجين pH فيها باستخدام كربونات الكالسيوم غير الذائبة كمستودع للمادة القلوية فى المستنبت يستخدم لمعادلة الحموضة الناتجة باستمرار . وتؤدى الحموضة الناتجة الى بيكربونات ثم الى حمض الكربونيك الذى يتحلل الى ثانى أكسيد الكربون CO_2 + ماء كما يلى :



$$CO_3^{2-} \underset{-H^+}{\overset{+H^+}{\rightleftarrows}} HCO_3^- \underset{-H^+}{\overset{+H^+}{\rightleftarrows}} H_2CO_3 \rightleftarrows CO_2 + H_2O$$

ويمكن استخدام كربونات الكالسيوم فى المستنبتات الخاصة لعزل الأحياء الدقيقة المنتجة للحموضة حيث تظهر هالات رائقة حول المستعمرات التى تنتج حموضة مما يؤدى الى اختفاء راسب كربونات الكالسيوم من حول المستعمرات .

ويمكن قياس درجة الأس الأيدروجيني pH لأى محلول بطريقة كهربية باستخدام جهاز قياس درجة الأس الأيدروجين (pH Meter) أو باستخدام صندوق مقارنة الألوان Lovibond Comparator مع استعمال دلائل كاشفة تعطى ألوانا مختلفة على درجات PH مختلفة ، والجدول (٣-٧) يوضح الدلائل المختلفة ، والألوان الناتجة على درجات pH مختلفة .

المجاهر Microscopy

كما أشرنا فى الباب الأول ، فان انتونى فان ليفينهوك اكتشف عالم الأحياء الدقيقة بواسطة استعمال مجهر بسيط مكون من عدسة واحدة ذات بعد بؤرى قصير ، وأنه لولا اكتشاف المجاهر لما أمكن رؤية الأحياء الدقيقة .

وقد تطورت المجاهر من وقت ليفينهوك عام ١٦٨٠ ، وعلى مدى ثلاثة قرون من الزمان الى أن وصلت للمجاهر التى نعرفها اليوم والتى تطورت تطورا كبيرا ...

وسنقدم هنا الأنظمة المختلفة للمجاهر المركبة المعروفة حاليا باختصار ...

١- المجهر الضوئى : Light microscope

يتركب المجهر الضوئى (شكل ٣-١١) من ثلاث أنظمة منفصلة من العدسات وهى :-

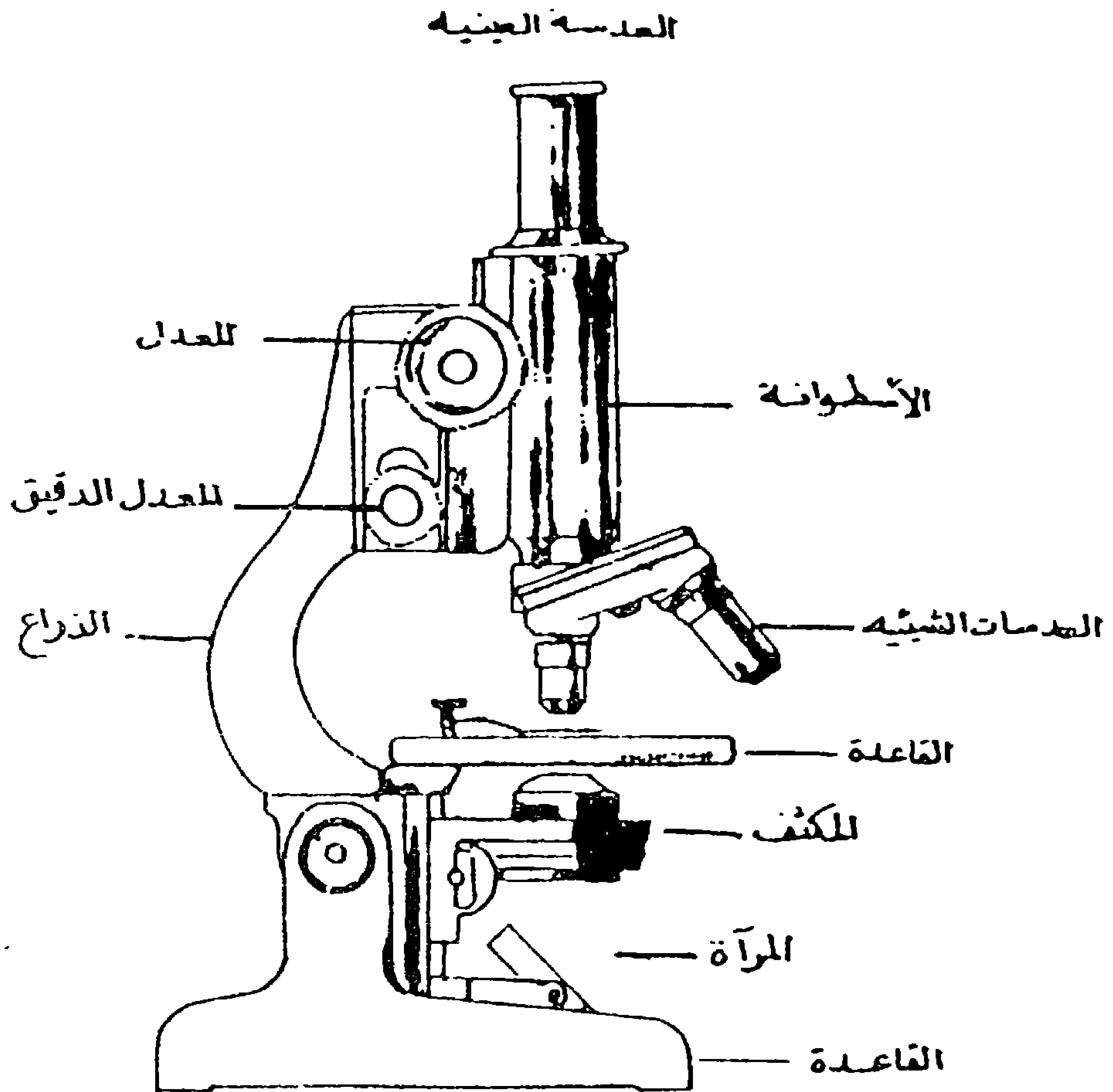
أ- المكثف : Condensor

وهو يقع بين مصدر الضوء والتحضير المراد فحصه ويقوم المكثف

جدول ٣ــ٧ : بعض الصفات الهامة لبعض الدلائل الكاشفة التى تستعمل فى الدراسات البكتريولوجية .

الدليل	كمية من NaOH ١ر٠ ن لكل ١ر٠ جرام من الدليل لتكوين الملح الصوديومى * مل	التركيز المطلوب من الدليل ٪ (فى محلول ٥٠ ٪ كحول ايثايل)	مجال درجة الاس الهيدروجينى pH	تغير اللون حمضى ـ قلوى
Metacresol purple (مجال حمضى)	٢ر٦٣	ر٠٤	١ر٢ - ٢ر٨	أحمر الى أصفر
Thymol blue (مجال حمضى)	٢ر١٥	ر٠٤	١ر٢ - ٢ر٨	أحمر الى أصفر
Brom phenol blue	١ر٤٩	ر٠٤	٣ر٠ - ٤ر٠	أصفر الى أزرق
Brom cresol green	١ر٤٣	ر٠٤	٣ر٨ - ٥ر٤	أصفر الى أزرق
Chlor cresol green	١ر٩٢	ر٠٤	٤ر٠ - ٥ر٦	أصفر الى أزرق
Methyl red	—	ر٠٢	٤ر٤ - ٦ر٠	أحمر الى أصفر
Chlor phenol red	٢ر٣٦	ر٠٤	٤ر٨ - ٦ر٤	أصفر الى أحمر
Brom cresol purple	١ر٨٥	ر٠٤	٥ر٢ - ٦ر٨	أصفر الى أرجوانى
Brom thymol blue	١ر٦٠	ر٠٤	٦ر٠ - ٧ر٦	أصفر الى أزرق
Phenol red	٢ر٨٢	ر٠٢	٦ر٨ - ٨ر٤	أصفر الى أحمر
Cresol red	٢ر٦٢	ر٠٢	٧ر٢ - ٨ر٨	أصفر الى أحمر
Metacresol purple (مجال قلوى)	٢ر٦٢	ر٠٤	٧ر٤ - ٩ر٠	أصفر الى أرجوانى
Thymol blue (مجال قلوى)	٢ر١٥	ر٠٤	٨ر٠ - ٩ر٦	أصفر الى أزرق
Cresolphthalein	٢ر٨٩	ر٠٤	٨ر٠ - ٩ر٨	عديم اللون الى أحمر
Phenolphthalein	—	ر٠٥	٨ر٣ - ١٠ر٠	عديم اللون الى أحمر

(*) لعمل محلول مائى من الدليل أضف كمية NaOH ١ر٠ أساسى الى ١ر٠ جرام من الدليل وتصحن فى هون صينى ثم يضاف اليها ماء مقطر الى أن يصبح الحجم ٢٥٠ مل وعندئذ يكون تركيز الدليل بالمحلول ٠٤ر٠ ٪ .



شكل ٣ــ١١ : رسم تخطيطي لمجهر ضوئي حديث.

بتجميع الضوء على حقل المجهر لتحسين نوعية الاضاءة ، مما يمكن من الحصول على قوة تكبير عالية . والمكثف يمكن تحريكة الى أسفل وأعلى بواسطة منظم خاص للحصول على أفضل اضاءة .

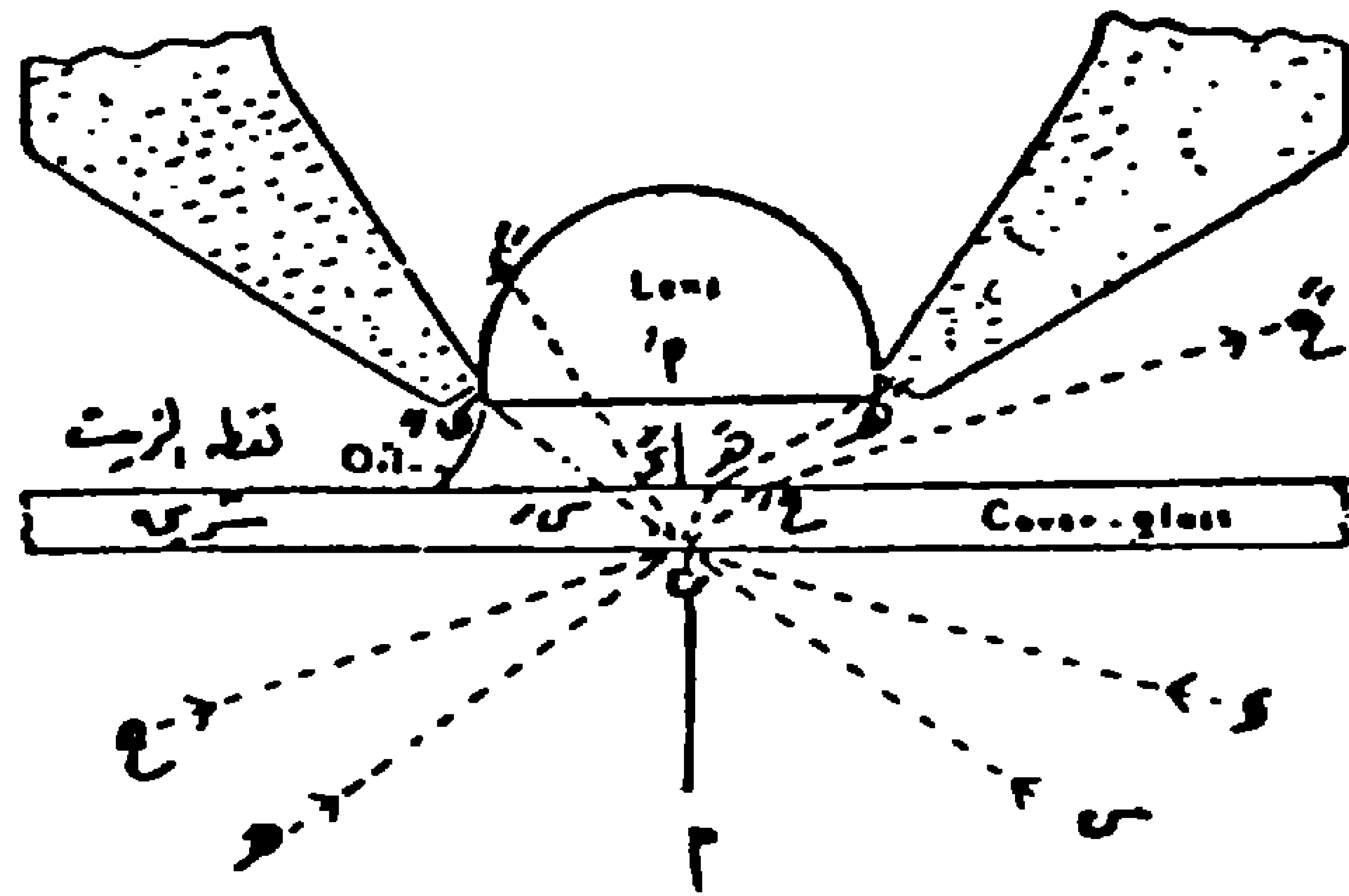
ب ـ العدسات الشيئية Objective lenses :

تركب مجموعة العدسات الشيئية على قطعة أنفية Nose piece دوارة تحتوى على ٣ـ٥ عدسات ، العدسة الصغرى ذات قوة تكبير تصل الى ١٠ x (تكبير الأشياء عشرة مرات) والعدسة الوسطى ذات قوة تكبير ٤٠ـ٤٥ x (تكبير الأشياء ٤٠ الى ٤٥ مرة) والعدسة الكبرى ذات تكبير ٩٠ـ١٠٠ x (تكبير الأشياء من ٩٠ الى ١٠٠ مرة) وتختلف الأخيرة عن العدستين الصغرى والوسطى فى طريقة استعمالها ، فيجب عند استعمالها غمرها فى زيت ذو معامل انكسار مساو لمعامل انكسار زجاج الشريحة الزجاجية (١٫٥٢) المستخدمة فى التحضير . ويستخدم لذلك زيت السيدر عادة . ولذلك تسمى العدسة الكبرى باسم العدسة الزيتية أو العدسة المغمورة فى الزيت Oil immersion lense .

وترجع أهمية استعمال الزيت لغمر العدسة الزيتية الى منع تشتت الضوء بالانكسار . حيث أن زيادة التكبير تستلزم زيادة الاضاءة حتى يمكن رؤية التحضير بوضوح .

واذا فرضنا أن نصف الحيز الذى يقع بين العدسة وبين الشريحة يحتوى على زيت معامل انكساره يساوي معامل انكسار الزجاج ، بينما فى النصف الآخر لا يوجد سوى الهواء (شكل ٣ـ١٢) فيلاحظ أن النصف الذى لا يوجد فيه زيت يتشتت الضوء فيه بالانكسار مبتعدا عن العدسة الشيئية . بينما فى النصف الآخر فان الضوء لا ينكسر ويدخل الى العدسة الشيئية .

ومن ذلك يتضح أن نقطة زيت السيدر تساعد على تجميع الأشعة الضوئية التى تنفذ الى العدسة الشيئية ، فبدلا من دخول الأشعة



شكل ٣ـ٢١ : رسم تخطيطى يوضح تأثير زيت الغمر على مسار الضوء . لاحظ أن الضوء فى النصف الأيسر من الرسم يمر فى خط مستقيم ليصل الى العدسة . أما مسار الضوء فى النصف الأيمن حيث لا يوجد زيت ينكسر الضوء بعيدا عن العدسة .

المحصورة فى المنطقة هـ ب س فقط فى حالة عدم وجود الزيت فانه فى حالة وجود هذا الزيت تزداد كمية الأشعة الداخلة وتمثلها الأشعة المحصورة فى المنطقة ج ب د ٠

جـ ـ العدسات العينية : Ocular lens :

وهى تكبر الصورة الناتجة عن العدسة الشيئية وتوصلها للعين.

يمتاز المجهر الضوئى المركب عن المجاهر البسيطة ذات العدسة الواحدة بأنه يتغلب على الزيغ abberation (التشويش ـ عدم الوضوح ـ التشتت) بنوعيه الدائرى Spherical ، واللونى Chromatic والذى غالبا ما يحدث فى المجاهر البسيطة ٠

وتركب العدسات العينية والشيئية على أنبوبة واحدة قابلة للحركة لأعلى ولأسفل بالنسبة للتحضير الذى يوجد على مسرح المجهر ٠ ويمكن تحريك الأنبوبة الى أعلى وأسفل بواسطة منظم للضبط التقريبى Coarse adjustment Knobs بغرض وضع التحضير بصفة تقريبية عند البعد البؤرى للعدسة الشيئية ثم يضبط وضع التحضير بدقة عند البعد البؤرى بواسطة منظم للضبط الدقيق Fine adjustement Knob ٠ وقد يكون مسرح Stage المجهر قابل للحركة فى اتجاهات مختلفة لتسهيل الفحص. وتكون جميع الأجزاء السابقة أنبوبة العدسات ومسرح المجهر والمكثف ومصدر الضوء مركبة على عمود أو قائم Pillar متصل مع القدم عادة بواسطة مفصل ٠ وفى كثير من المجاهر تكون العدسة العينية مزدوجة لتسمح بالرؤية خلال العينين بدلا من الرؤية خلال عين واحدة ، وتكون قوة تكبير المجهر هى حاصل ضرب قوة تكبير العدسة العينية فى قوة تكبير العدسة الشيئية ٠ وتكون قوة التكبير مكتوبة على العدسات ويمكن زيادة قوة تكبير المجهر (فى بعض المجاهر التى يوجد بها أنبوبة سحب) بسحب أنبوبة داخلية للأنبوبة الحاملة للعدسات العينية والشيئية ٠ ولكن مثل ذلك التكبير لا يكون مصحوبا بزيادة قوة

التمييـــز Resolving Power .

قوة التمييز Resolving Power ;

وهى قدرة المجهر على أن يكون صورا منفصلة عن بعضها البعض لنقط أو أجزاء صغيرة متقاربة من بعضها بشكل صور منفصلة غير متراكبـــة فوق بعضها وهذه الخاصية تحدد التفاصيل الدقيقة التى يمكـــــــن مشاهدتها مجهريا . فمثلا نجد أن شيئا صغيرا يظهر تحت المجهـــر فى صورة قرص محاط بحلقات من الضوء والظلام . فاذا كان هناك نقطتيـــن متجاورتين فيكون تمييزهما كنقط منفصلة Resolved عندما تكـــــون الحلقات المحيطة بهما منفصلين بدون تراكب بعضها فوق بعض . وأصغر مسافة بين نقطتين يمكن تمييزها تعرف باسم قوة التمييز Resolving Power وهذا يحدد أقصى حد نافع للتكبير فى المجهر الضوئـــى ويرمز لقوة التمييز هذه بالحرف (d) .

$$(d) = \frac{0.5\,\lambda}{N \sin\alpha}$$

λ = الطول الموجى للضوء المستخدم .

$\sin\alpha$ = جيب نصف زاوية العدسة الشيئية .

N معامل انكسار الوسط بين التحضير والعدسة الشيئية

والقيمة ($N \sin\alpha$) تسمى قيمة الفتحة العددية للعدسة الشيئيـة (NA) وتصف خواص العدسة الشيئية . وزيادة قيمة الفتحة العدديـة للعدسة الشيئية تزيد قوة التمييز ولكن الى حد محدود لو كان الوسـط بين العدسة الشيئية والتحضير هو الهواء فان قيمـــــة الفتحــــة العددية تكون محدودة بالقيمة ٦٥ر٠ ويمكن زيادة هذه القيمة الـــى ٤ر١ بوضع زيت ذو معامل انكسار ٥٢ر١ بدلا من الهواء بين العدسـة الشيئية والتحضير . وتحت الظروف المعملية فانه يمكن الحصول على قـوة تمييز قصوي حوالى ٢٠٠ نانوميتر باستخدام ضوء مرئى ذو أقصر طـــول موجى مرئى (حوالى ٤٢٦ نانوميتر) .وبمعنى آخر فان نقطتين المسافـــة

بينهما أقل من ٢٠٠ نانوميتر لا يمكن التمييز بين صورتيهما بالمجهر الضوئى ٠

٢- مجهر الأشعة فوق البنفسجية

Ultraviolet light microscope

بالرجوع الى معادلة قوة التمييز فاننا نلاحظ أنه يمكن زيادة قوة التمييز كلما صغر الطول الموجى للأشعة المستخدمة ٠ ونظرا لأن الأشعة فوق البنفسجية (١٠٠ ـ ٤٠٠ نانوميتر) ذات طول موجى قصير ، فقد قامت فكرة عمل مجهر الأشعة فوق البنفسجية ٠

ويختلف هذا المجهر عن المجهر الضوئى فى أن مصدر الضوء فى مجهر الأشعة فوق البنفسجية يكون هو الأشعة فوق البنفسجية ، كما أن عدساته من الكوارتز ، ويجب استعمال كاميرا معه لتسجيل الصور ، حيث أن العين لا يمكنها رؤية الأشعة فوق البنفسجية ، فهى فى المجال غير المرئى ، وتصل قوة التمييز Resolving Power الى ١٠٠ نانوميتر ٠

٣- المجهر الفلورسنتى Florescence Microscope

ان العيوب الواضحة فى مجهر الأشعة فوق البنفسجية مثل عدم قدرة العين على استقبال الصور الموجودة وضرورة تسجيل الصور على أفلام خاصة حساسة للأشعة فوق البنفسجية قد جعل من مجهر الأشعة فوق البنفسجية أداة غير شائعة ٠ وقد أدخلت عليه تعديلات فأنتج المجهر الفلورسنتى وهو ذو استعمالات بيولوجية متعددة ، وتعتمد فكرته على أن مركبات كيميائية معينة ذات القدرة على امتصاص الأشعة فوق البنفسجية تشع جزء من هذه الطاقة بطول موجى أطول من الطول الموجى للأشعة فوق البنفسجية ، وينتج عن ذلك ضوء يقع فى مجال الضوء المرئى ، وتعرف هذه الظاهرة باسم الفلورنسنس Florescence وعند تعريض جسم فلورسنت للأشعة فوق البنفسجية فانه ينتج عنه ضوء

ساطع فى وسط مظلم · وهذا هو أساس المجهر الفلورسنتى · وتكون عدسة المكثف فقط هى المصنوعة من الكوارتز حيث أن الضوء الذى يخرج من التحضير هو ضوء فلورسنت · ويشمل استعمال هذا النوع من المجاهر استعمال تقنية خاصة تسمى Immunoflorescence فعندما يحقن حيوان بجسم غريب معين Specific Antigen مثل نوع معين من البكتيريا ، فان الجسم ينتج أجساما مضادة Antibodies ترتبط بهذا الجسم الغريب·

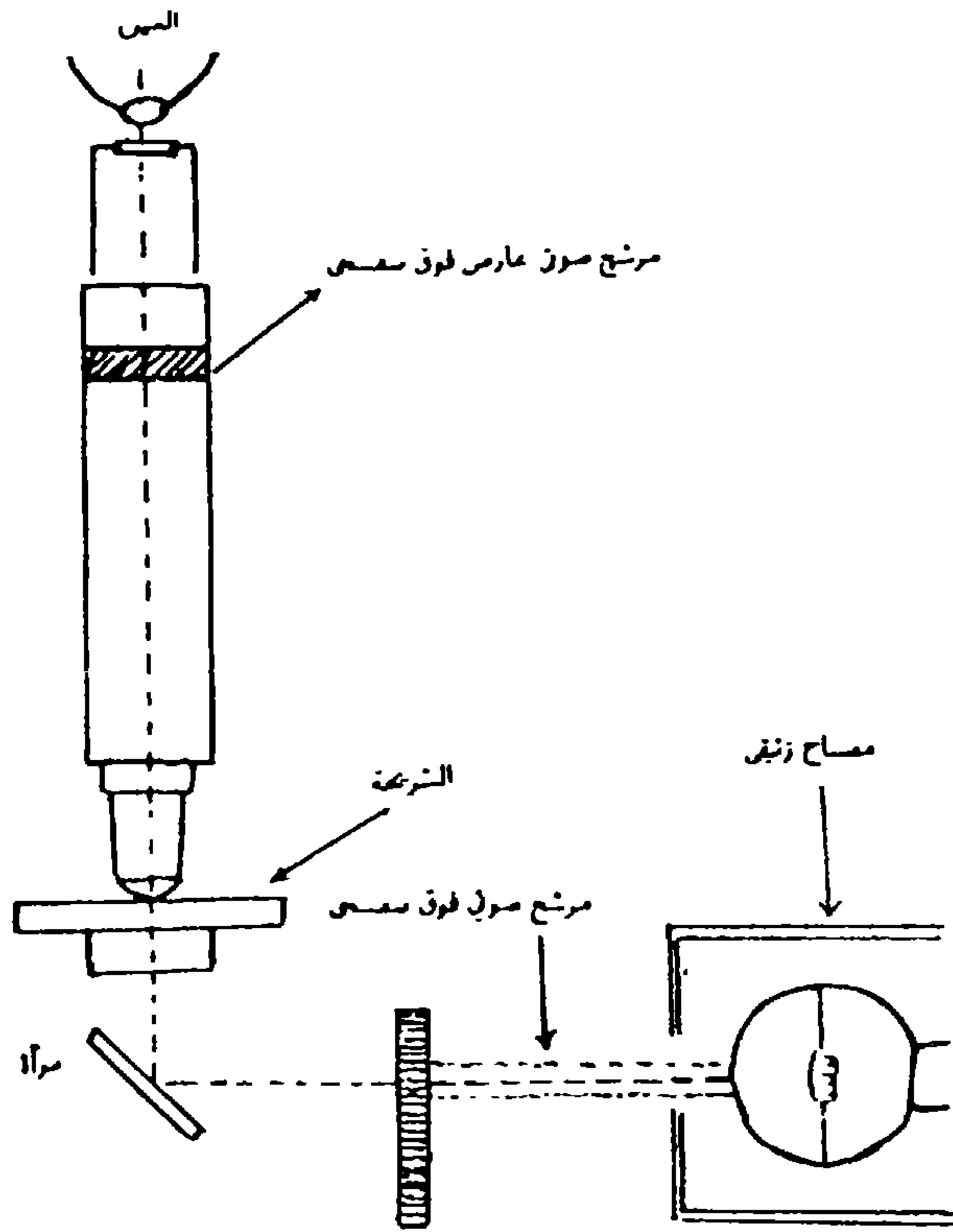
ويمكن جعل بروتين الأجسام المضادة يكوّن ضوء فلورسنتى باضافة صبغة خاصة تسمى صبغة الفلورسنت Florescent dye وعند ارتباط هذه المكونات ببعضها فانها تنتج ضوء فلورسنتى من الأشعة فوق البنفسجية · ويمكن بهذه التقنية الكشف عن نوع معين من البكتيريا فى مخلوط من البكتيريا باضافة الأجسام المضادة الخاصة بها وفحصها بالمجهر الفلورسنتى · كما استخدمت هذه التقنية أيضا فى دراسة طريقة نمو الجدار الخلوى فى البكتيريا · (شكل ٣ـ١٣) ·

٤ ـ مجهر التباين (الأطوار المتباينة)

Phase contrast microscope

تعتمد فكرة هذا النوع من المجاهر على أن الخلايا والأنسجة لها معامل انكسار يختلف عن معامل انكسار الوسط المحيط، وهذا الاختلاف يستخدم لتكوين صورة للجسم المختلف فى معامل الانكسار بدرجة أكبر من التمييز عما يمكن الحصول عليه فى المجهر الضوئى العادى، ويمكن استغلال هذا الاختلاف أيضا لرؤية مكونات الخلية دون حاجة لصبغها أو قتلها وتثبيتها كما يحدث فى المجهر الضوئى العادى ·

الشكل (٣ـ١٤) يوضح مسارات الضوء فى كل من المجهر الضوئى العادى ومجهر الأطوار المتباينة · ومجهر الحقل المظلم Dark field microscopy لتوضيح الفروق بينها · ففى مجهر الأطوار المتباينة يكون مصدر الضوء مخروطا فارغا من الضوء يأتى نتيجة مروره



شكل ٣ـ١٣أ : رسم يوضح تنظيم المكونات المجهرية لدراسة الخلايا والأنسجة بالضوء الفلورسنتى Fluorescent light

على حلقة خاصة قبل وصوله لعدسة المكثف· وفى العدسة الشيئية توجد حلقة تقدم أو تؤخر المسار بمقدار $\frac{1}{4}$ الموجة الضوئية على ما هى عليه فى المركز وبالتالى ينتج قوة تمييز أفضل للتفاصيل الدقيقة وخاصة فى المواد الحية·

٥- مجهر الحقل المظلم Dark field microscopy

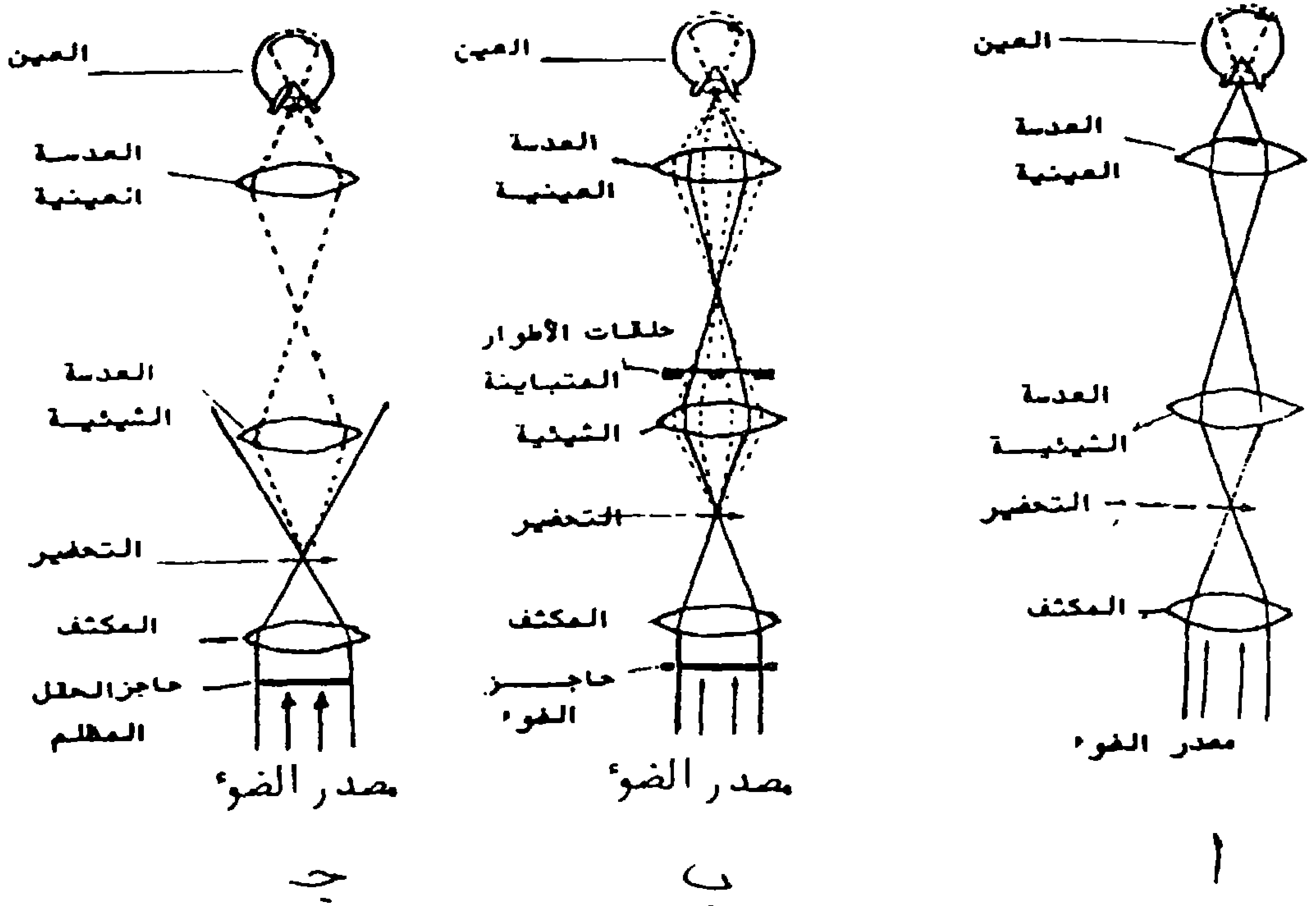
يعتمد هذا النوع من المجاهر على بعثرة الضوء بواسطة التحضير Specimen فيظهر الجسم المفحوص مضىء فى وسط مجال مجهرى مظلم· ويزود مكثف مجهر الحقل المظلم بدائرة معتمة فى المركز حتى لا يصل أى ضوء مباشر الى التحضير المفحوص (شكل ٣-١٤) · والضوء الذى يصل الى التحضير يأتى من خارج الدائرة المعتمة بزاوية مارا خلال التحضير، فعند النظر فى المجهر عند عدم وجود التحضير لا يرى شىء على الاطلاق الا الظلام· ولكن عند وجود التحضير فان جزء من الضوء يتبعثر على خلايا التحضير ، وهذه الأشعة المبعثرة هى التى تصل الى العدسة الشيئية فالعينية ، لذلك يبدو التحضير مضيئا فى وسط مظلم·

ويستعمل هذا المجهر لرؤية الكائنات الدقيقة مثل بعض أنواع البكتيريا والسوطيات· ويجب أن تكون الشرائح الزجاجية نظيفة جدا وخالية من الخدوش حتى لا ينتج عنها أى انكسارات للضوء·

٦- المجهر الالكترونى المنفاذ

Transmission electron microscope

ان اكتشاف المجهر الالكترونى (شكل ٣-١٥) هو أحد أهم الاكتشافات فى القرن العشرين فى مجال الفيزياء التطبيقية· وقد أحدث هذا الاكتشاف الهام تطويرا كثيرا للمعلومات البشرية فى مجال علوم الحياة Biology · وكان اكتشاف المجهر الالكترونى مبنيا على أساس أن المجال الكهرومغناطيسى الذى تمر خلاله حزمة من الالكترونات



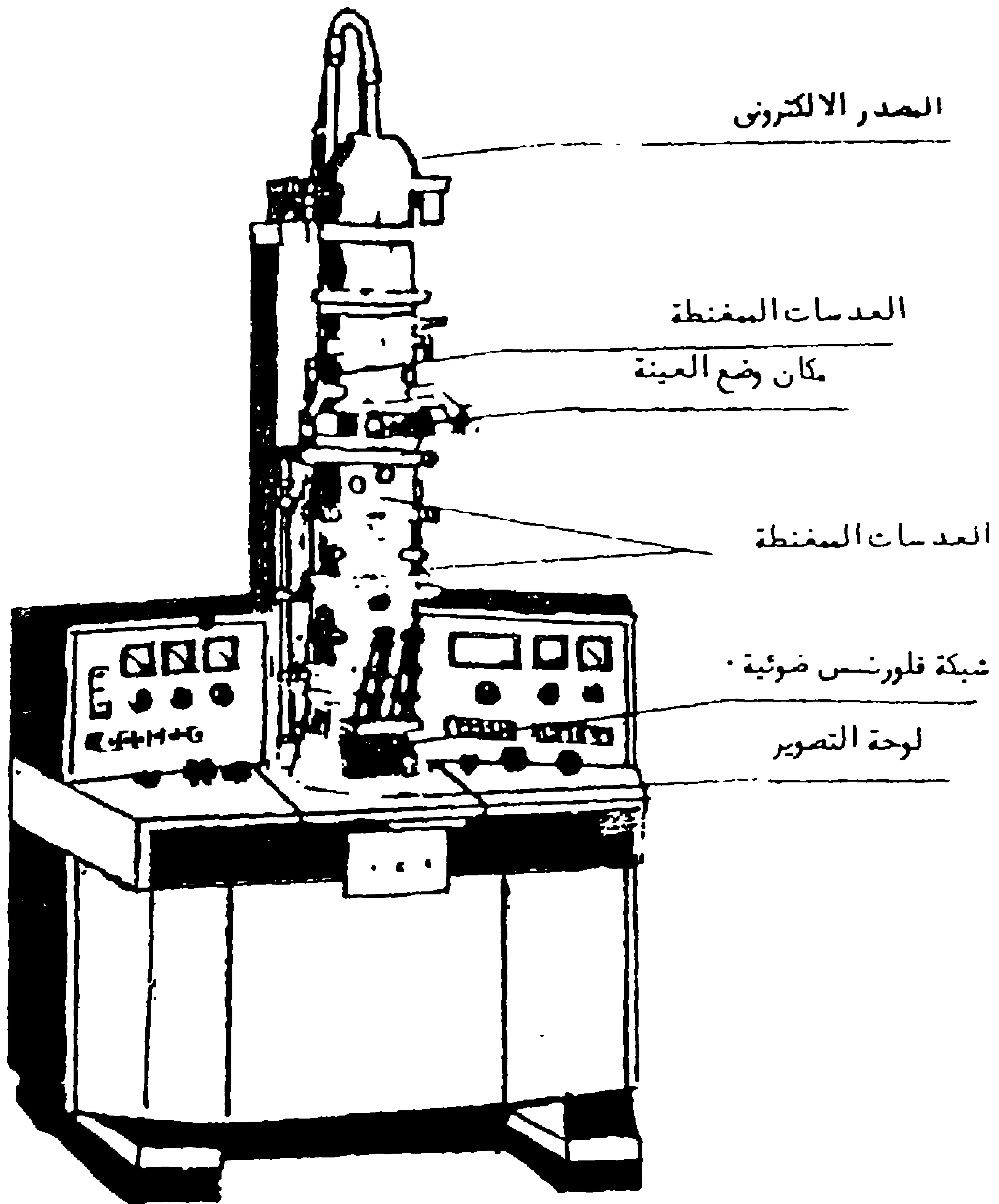
شكل ٣ ـ ١٤ : مسار الضوء فى كلا من :

أ ـ مجهر الحقل المضىء Bright field

ب ـ مجهر الأطوار المتباينة Phase contrast

جـ ـ مجهر الحقل المظلم Dark field

شكل ٣_١٥ : صورة للمجهر الالكترونى النفاذ



Beam of Electrons يشبه لحد ما عمل العدسة الزجاجية التي يمر خلالها حزمة ضوئية (شعاع ضوئى) • فالحزمة الالكترونية لها نفس خواص الشعاع الضوئى ذات الطول الموجى القصير جدا عند ما يسلط عليها تيار كهربائى عالي الجهد (١٠٠ ألف فولت) فان الطول الموجى يكون ٠٤ر٠ نانوميتر (أى حوالى عشرة آلاف مرة أقصر من الطول الموجى للضوء العادى • لذلك فان قوة التمييز Resolving Power في المجهر الالكترونى أكبر بكثير من المجهر الضوئى ، بمعنى أن المجهر الالكترونى يستطيع التمييز بين شيئين أكثر قربا من بعضهما عما يمكن تمييزه بالمجهر الضوئى •

أول مجهر الكترونى كان من صنع شركة سيمنز الألمانية ١٩٣٩م• ثم قامت شركة بريطانية بتطوير نموذج أفضل وهو المجهر الالكترونى AEI 2 • ولم تستخدم هذه المجاهر الالكترونية في الدراسات البيولوجية نظرا لعدم توفر المعدات اللازمة لعمل قطاعات رقيقه جدا • وذلك لأن قوة اختراق الالكترونات للمواد صغيرة جدا ، ولا يمكن رؤية صور التحضيرات البيولوجية الا بعمل شرائح رقيقة جدا منها •

وقرب منتصف القرن الحالى طورت أجهزة تقطيع خاصة ذات قدرة على عمل شرائح رقيقة متناهية الصغر في السمك • كما استحدثت مادة بلاستيكية تستخدم لطمر العينات (المراد دراسة تركيبها الداخلى الدقيق Internal Fine Structure) بعد تثبيتها وتجفيفها حيث يمكن تقطيعها بعد ذلك الى شرائح لا يزيد سمكها عن ٥٠ نانوميتر •

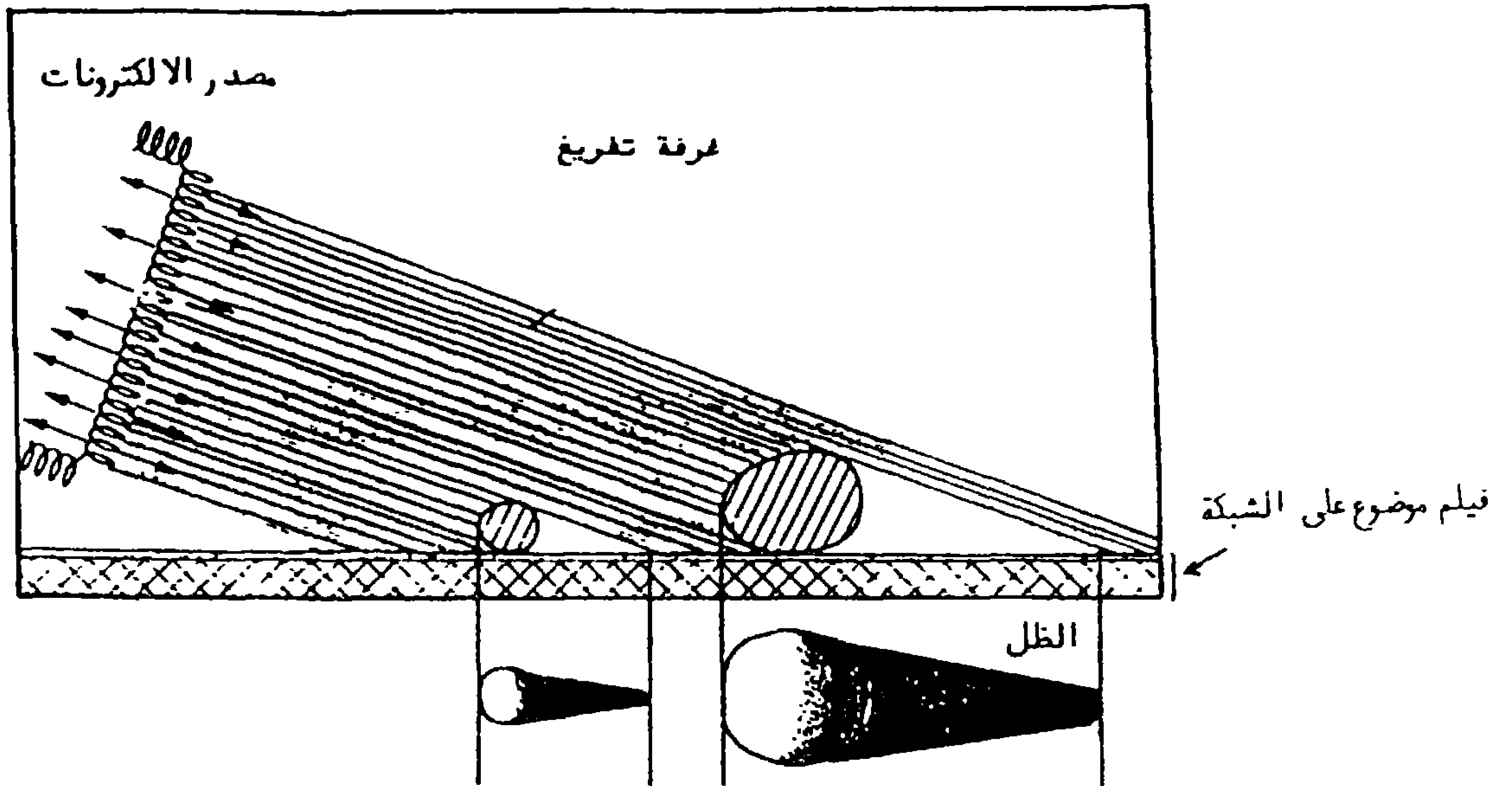
وقد طورت أيضا طرق تقنية حديثة لعمل التحضيرات مثل الصبغ Staining بأملاح المعادن الثقيلة (كالرصاص والتنجستن واليورانيوم) وهذه اما تثبت على التحضير (صبغ موجب Positive staining) أو تستخدم نفاذية الالكترونات في الوسط المحيط بالتحضير ، ولا تنفذ في التحضير نفسه فتتكون صورة سالبة للتحضير • والصبغ السالب بصفة خاصة مفيد جدا في فحص التراكيب الصغيرة جدا مثل الفيروسات

وجزيئات البروتين وأسواط البكتيريا وغيرها . كما ابتكرت أيضا طريقتي التظليل بالمعادن Metal shadowing وال Freeze etching لفحص التحضيرات البيولوجية .

ففي طريقة التظليل بالمعادن (شكل ٣ـ١٦) يعرض التحضير المجفف بزاوية حادة لتيار مباشر من معدن ثقيل (كالبلاتين أو الذهب أو البلاديوم) منتجا بذلك صورة تظهر الثلاثة محاور لتركيب الجسم المفحوص.

أما في ال Freeze etching فان التحضير يجمد على درجة حرارة منخفضة ثم تقطع الكتلة المجمدة بواسطة سكاكين خاصة لتظهر الأسطح المختلفة للتحضير . ويمكن بعد ذلك تظليل هذه الأسطح بالمعادن الثقيلة بتعريضها لتيار من المعدن بزاوية حادة كما سبق الذكر . ثم يغطى المعدن بطبقة من الكربون لحمايته ثم يحطم التحضير المظلل بمعاملة كيميائية خاصة تاركا قالب أو بصمة Replica للتحضير الأصلي فتفحص. وقد استخدمت هذه الطريقة لفحص تركيب الجدار الخلوي والغشاء الخلوي لكثير من الكائنات الدقيقة .

ولقد أدى اكتشاف المجهر الالكتروني الى زيادة كبيرة في التكبير وقوة التمييز (درجة الوضوح للأجسام الصغيرة جدا) فتغلبت المجاهر الالكترونية على عيوب المجاهر الضوئية ذات قوة التمييز المحدودة والمحددة بالطول الموجي للضوء المرئي . (فالمجهر الضوئي الذي يستعمل الضوء المرئي الأزرق " وهو الضوء الذى له أقصر طول موجي نطاق الضوء المرئي ٤٠٠ نانوميتر" يكون له القدرة على اظهار الأشياء التي لا تقل المسافة بينها عن ٢٠٠ نانوميتر كما سبق وأن ذكرنا) . أما المجاهر الالكترونية فاستخدمت حزم الكترونية (شعاع الكتروني) ذات سرعة عالية جدا ذو طول موجي قصير جدا حوالي ٠٤ر٠ نانوميتر (كمصدر للاضاءة) . لذلك فالمجهر الالكتروني يستطيع التمييز



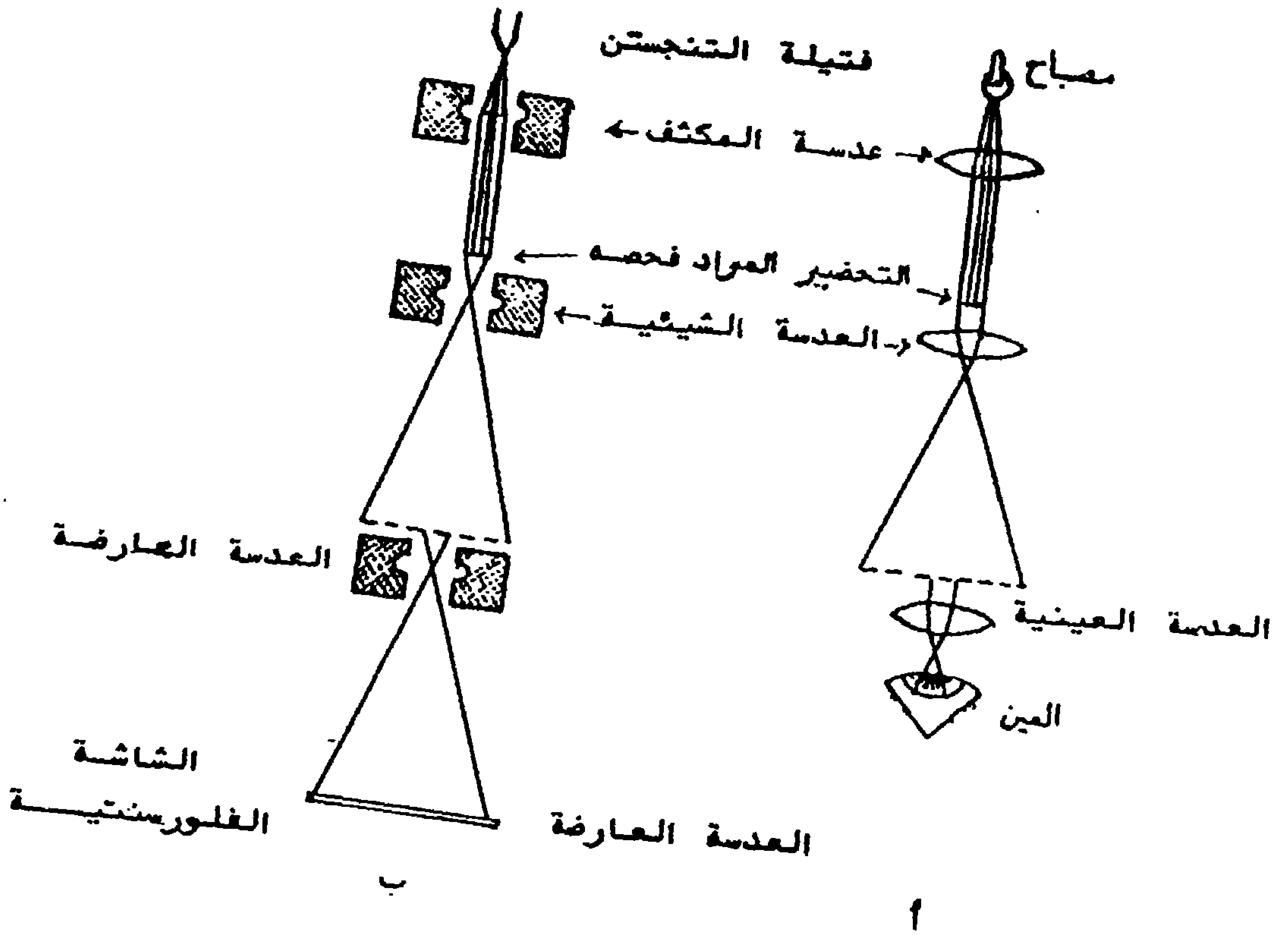
شكل (٣_١٦) : رسم تخطيطى يوضح تحديد شكل وحجم الفيروسات بطريقة الظل باستخدام المجهر الالكترونى

بين النقط التي تكون المسافة بينها ٢ر الى واحد نانوميتر ، أى حوالى ألف ضعف قدرة تمييز أقوى المجاهر الضوئية ، ويمكن الحصول على هذا الطول الموجي القصير جدا للشعاع الالكترونى بامرار الالكترونات فى وسط شديد التفريغ (يكون الضغط أقل من ١٠ ملليمتر زئبق) تحت ضغط تيار كهربائى شديد (عادة يستخدم تيار شدته من ٦٠٫٠٠٠ ـ ١٨٠٫٠٠٠ فولت وهناك بعض المجاهر الحديثة التى تستعمل تيار شدته مليون فولت ـ وكلما زادت شدة التيار كلما قصر الطول الموجى للشعاع الالكترونى وزادت قوة التكبير • وفى المجاهر الالكترونية الحديثة أمكن الوصول الى قوة تكبير تتراوح ما بين ٦٣٠٫٠٠٠ مرة الى ١٫٦٠٠٫٠٠٠ مرة) لتمر الالكترونات خلال الجسم المراد فحصه ثم استقبالها على لوحة تصوير ضوئى حساسة • فتتكون على هذه اللوحة صورة نافذة لمكونات الجسم المفحوص أشبه ما تكون بصور الأشعة السينية X-rays • كما يمكن استقبال الالكترونات على لوحة فلورسنتية • ونظرا لما تحمله الالكترونات من شحنة كهربية فانه يمكن تجميعها باستخدام مجالات كهربية أو مغناطيسية (شكل ٣ـ٧) فيتكون بذلك جهاز للاظهار له القدرة على الكشف عن دقائق التركيب الداخلى للأجسام •

والسبب فى عمل التفريغ الشديد يرجع الى أن الشعاع الالكترونى يتشتت فى وجود الغازات نتيجة اصطدام الالكترونات بجزئيات الغاز • لذلك فلابد من وضع العينة ومصدر الالكترونات والعدسات والشاشة والصفائح الفوتوغرافية فى عمود مجوف محكم يتصل بمضخة تفريغ •

تركيب المجهر الالكترونى :

ويتركب المجهر الالكترونى من أجزاء أساسية هى :



شكل ٣ـ١٧ : رسم تخطيطى لمقارنة مسار الضوء فى المجهر الضوئى (أ) والمجهر الالكترونى (ب) .

١ ـ حجرة المهبط   Cathod housing

وهى مصدر شعاع الالكترونات (وتمثل لمبة الاضاءة فى المجهر الضوئى)وهى حجرة ذات جدار مزدوج غير قابل للمغنطة • وبها قطب المهبط وهو يتكون من فتيلة مخروطية من التنجستن Tungsten Filament بها أنبوبة أسطوانية ، ويوجد فى قاع حجرة المهبط صفيحة المصعد Anode Plate .

٢ ـ المكثف الكهرومغناطيسى

Electromagenetic alignment system

وهو يصلح من سير الالكترونات (ويمثل المكثف الضوئى الموجود بين مصدر الاضاءة والتحضير المطلوب فحصه فى المجهر الضوئى) ويتكون من زوجين من الملفات الكهربائية فى مستويين متتاليين يمر فيهما تيار متغير يحدث مجال مغناطيسى ، ويمكن تنظيم سرعة الالكترونات بواسطة جزء خاص فى المكثف يسمى منظم قوة الاضاءة •

٣ ـ جهاز تكوين الصورة   Imaging system

وهى المسئولة عن تكوين الصورة (وتشبه فى عملها العدسات الشيئية والعينية) وهى عبارة عن ثلاث عدسات مصنوعة من معدن قابل للمغنطة ، وهذه العدسات هى الشيئية Objective وهى القريبة من التحضير المرغوب فحصه ، ثم العدسة المتوسطة Intermediate lens ويليها عدسة العرض Projector lens كما يوجد حواجز لمنع التباين وتوضيح الصورة •

والعدسة الشيئية مصممة بحيث تضم بين قطبيها كلا من الجسم المراد فحصه وحاجز التباين • فتوضع القطاعات الرقيقة للعينات المراد فحصها على شبكة نحاسية Copper grid مغطاه بغشاء رقيق من مادة فورمفار Form Var أو طبقة رقيقة من الكربون Evaporated

Carbon ويمكن ادخال هذه الشبكة النحاسية الى غرفة العدسة الشيئية بواسطة قضيب خاص بحيث توضع بين قطبى العدسة الشيئية فى مسار الشعاع الالكترونى ٠

٤ ـ حجرة الرؤية

توجد أسفل عمود المجهر ولها ثلاث نوافذ جانبية يمكن خلالها رؤية الصورة على الشاشه الفلورسنتية الموجودة فى قاع الحجرة ٠ كما يوجد أيضا مجهر عادى جانبى لرؤية الصورة بوضوح أكثر ٠ ويمكن وضع آلة تصوير أسفل الشاشه لتسجيل الصور على ألواح حساسة ٠

مقارنة بين المجهر الضوئى والمجهر الالكترونى

يتشابه المجهرين الضوئى والالكترونى من حيث وظائف الأجزاء الأساسية (شكل ٣ ـ ١٧) لدرجة كبيرة وفى كيفية الحصول على صورة مكبرة للتحضير المراد فحصه ٠٠ والجدول (٣ ـ ٨) يوضح أوجه الشبه المذكورة ٠

جدول (٣ـ٨) : أوجه الشبه بين المجهر الضوئى والمجهر الالكترونى :

وجه الشبه	المجهر الضوئى	المجهر الالكترونى
الأشعة المستخدمة	شعاع ضوئى مرئى ذو طول موجى طويل جدا ·	شعاع الكترونى ذو طول موجى قصير جدا ينتج من فتيلة الكاثود ·
المكثف	يتكون من عدسة زجاجية لتجميع الأشعة الضوئية على التحضير	عبارة عن مجال كهرومغناطيسى لبؤرة الشعاع الالكترونى على التحضير ·
العدسة الشيئية	عبارة عن عدسات زجاجية ذات بعد بؤرى قصير لتكوين صورة للتحضير المراد فحصه	عبارة عن مجال كهرومغناطيسى يستقبل الشعاع الالكترونى المار خلال التحضير لتكوين صورة مكبرة للعينة ·
العدسة العينية	عبارة عن عدسات زجاجية تستقبل الصورة المتكونة بالعدسة الشيئية وتنقلها للعين بعد ازالة الزيغ منها ·	يقابلها عدسة العرض Projector lens وهى عبارة عن مجال كهرومغناطيسى ينقل الصورة الى جهاز العرض

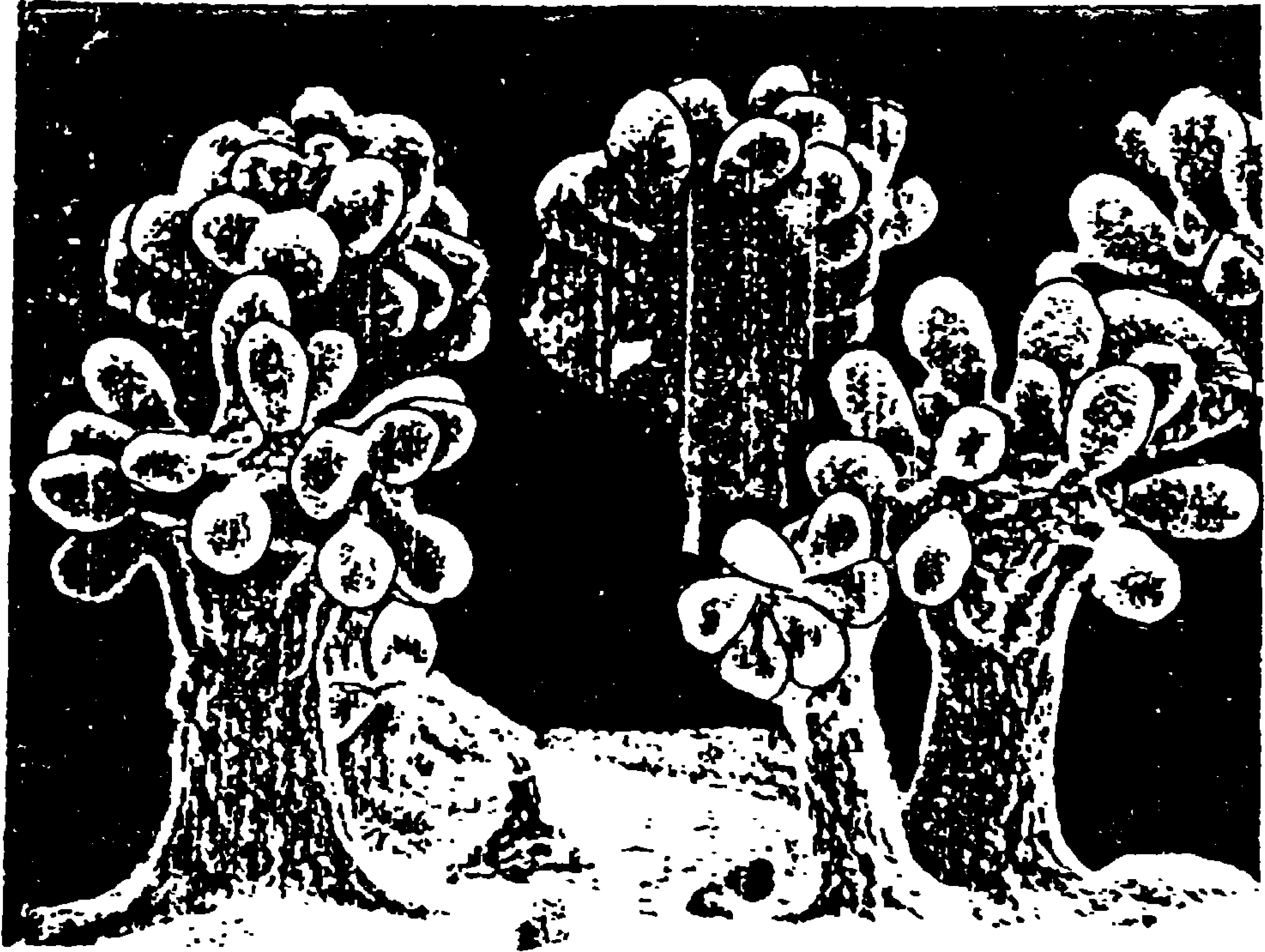
رغم أن وظائف الأجزاء الأساسية فى المجهر الضوئى والمجهر الالكترونى متشابهة الى حد كبير الى أن تركيب كلا من المجهرين مختلف تماما · كما أن قوة التكبير والتمييز أيضا تختلف فى كلا المجهرين ·

٧- المجهر الالكتروني المساح

Scanning electron microscope

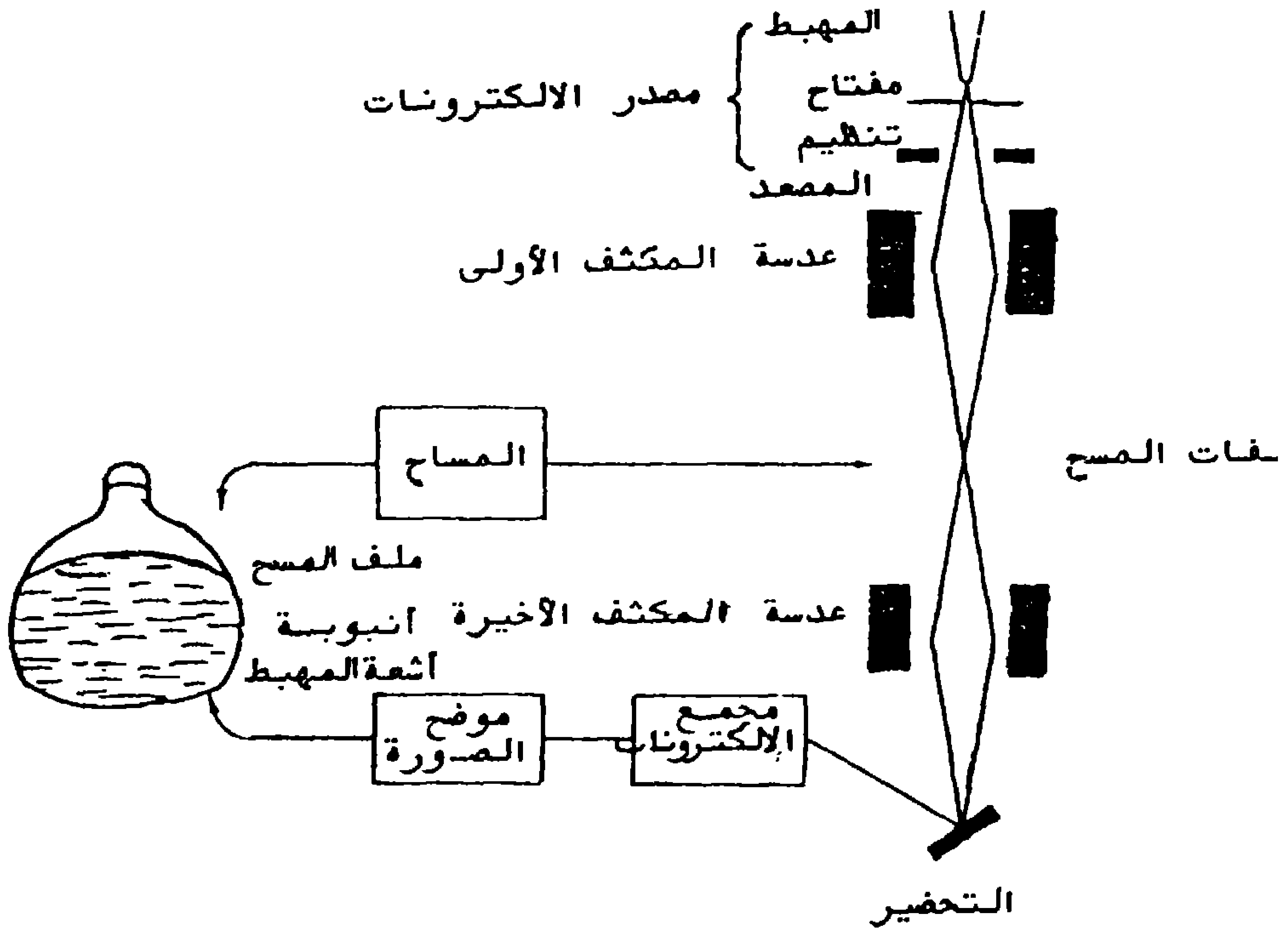
كلا من المجهر الالكترونى النفاذ والمجهر الضوئى تكون صـــورة أساسا ذات محورين Two dimensional حيث أن كلاهما له قــــدر محدود من عمق مجال الفحص.

وقد ظهر حديثا جهاز المجهر الالكترونى المساح ، وهـــو ذو قدرة على ايجاد صورة ذات ثلاث محاور Three dimensional للسطح المجهرى المطلوب فحصه . فعمق مجال الرؤية بهذا المجهر يصل الـــى عدة ملليمترات ، وقوة التكبير تصل من ٢٠ الى ١٠٠٠٠ مرة، والشكل (٣ـ١٨) يوضح مثال على الصور المتحصل عليها بهذا المجهر .



شكل (٣ـ١٨) صورة المجهر الالكترونى المساح للأجســام الثمرية للميكسو بكتيريا Chrondromyces crocatus تكبير ٨٢٠ مرة.

يغطى التحضير المطلوب فحصه بطبقة رقيقة من معدن ثقيل كالذهب ثم يمسح ذهابا وايابا بواسطة جهاز تكوين الشعاع الالكترونى Electron probe وهو ذو نهاية مجمعة مثل لمبات جهاز التليفزيون (شكل ٣ـ١٩) فتخرج الالكترونات من جهاز تكوين الشعاع الالكترونى الملتصق بالتحضير وتجمع لتكوين صوره على سطح أنبوبة شعاع المهبط.



شكل ٣ـ١٩ : رسم تخطيطى للمجهر الالكترونى المساح SEM

وينتج التمييز فى الصورة عن عدد الالكترونات المرتدة بواسطة التحضير . وهذا العدد من الالكترونات يتناسب مع الزوايا فى التحضير التى يمر عليها مصدر الالكترونات Electron probe ولذلك فان تفاصيل التركيب Topology للتحضير تظهر فى الصورة ، ويتكون جهاز تكوين الشعاع من مصدر الالكترونات ، وهو عبارة عن فتيلة من

التنجستن وثلاث عدسات كهرومغناطيسية Electromagnetic lenses بالاضافة الى الملفات الفاحصة Scanning ومصحح البصر البؤرى (ستجماتر Stagmator) وملفات انكسارية تسمح بالفحص الدقيق الالكترونى ، ويستخدم تيارا كهربائيا ذا ضغط عال يتراوح بين ١٥٠٠ الى ٢٥٠٠٠ فولت. ويمكن بواسطة هذاالجهاز فحص العينات الرطبة .

كما يمكن تركيب جهاز تليفزيونى للمجهر المساح فيمكن من متابعة التغيرات التى تحدث بالتحضير (العينة) . ولا يتطلب الأمر اجراءات معقده للعينات المراد فحصها بالمجهر المساح . بل يمكن فى بعض الأحيان فحص العينات دون تحضير مسبق . كما يتميز المجهر المساح أيضا بعمق بؤرى كبير يزيد حوالى ٣٠٠ مرة عن المجهر الضوئى ، لذلك فان السطوح الخشنة تصور بتفصيل دقيق . والقوة التمييزية لهذا المجهر تصل الى ٢٥ نانوميتر .

الباب الثانى

الأحياء الدقيقة حقيقية النواة أو ذوات النواه الحقيقية

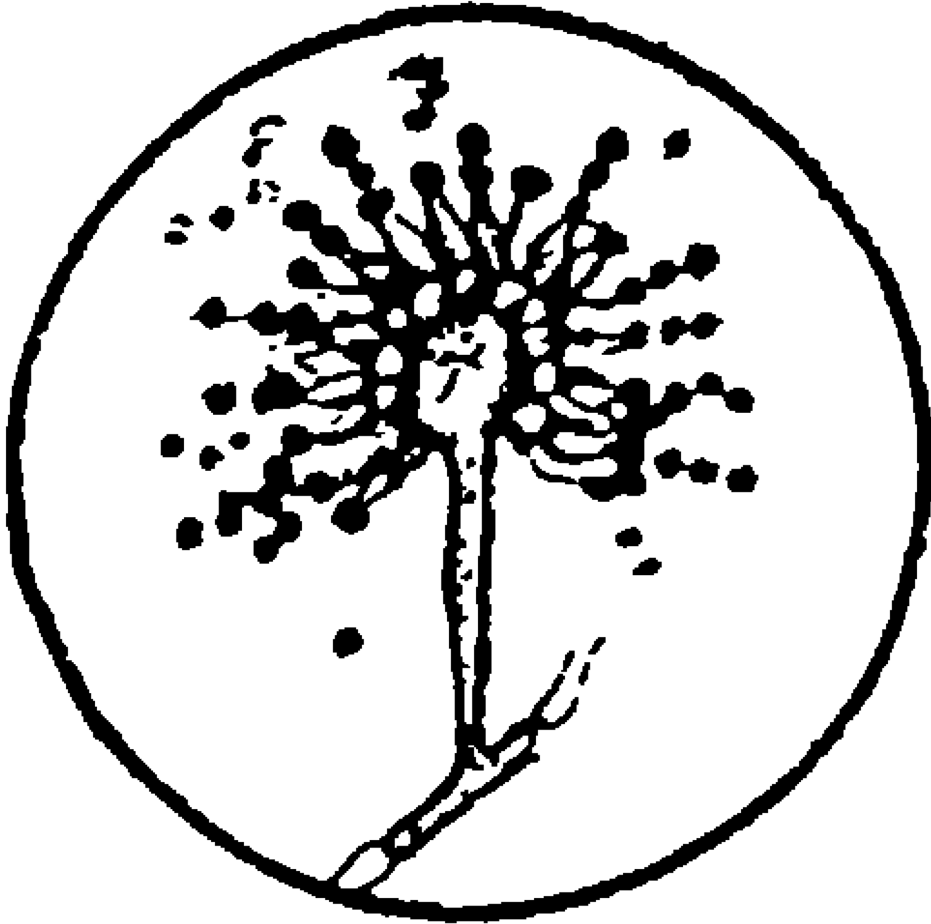
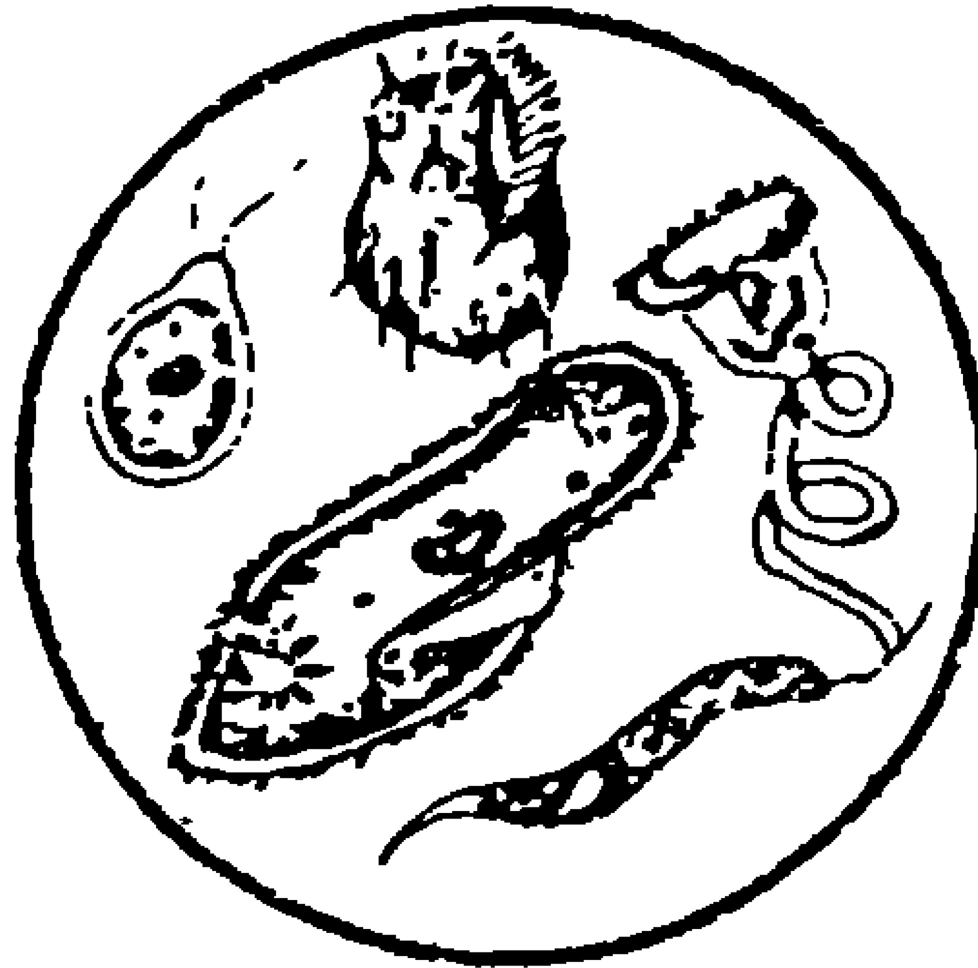
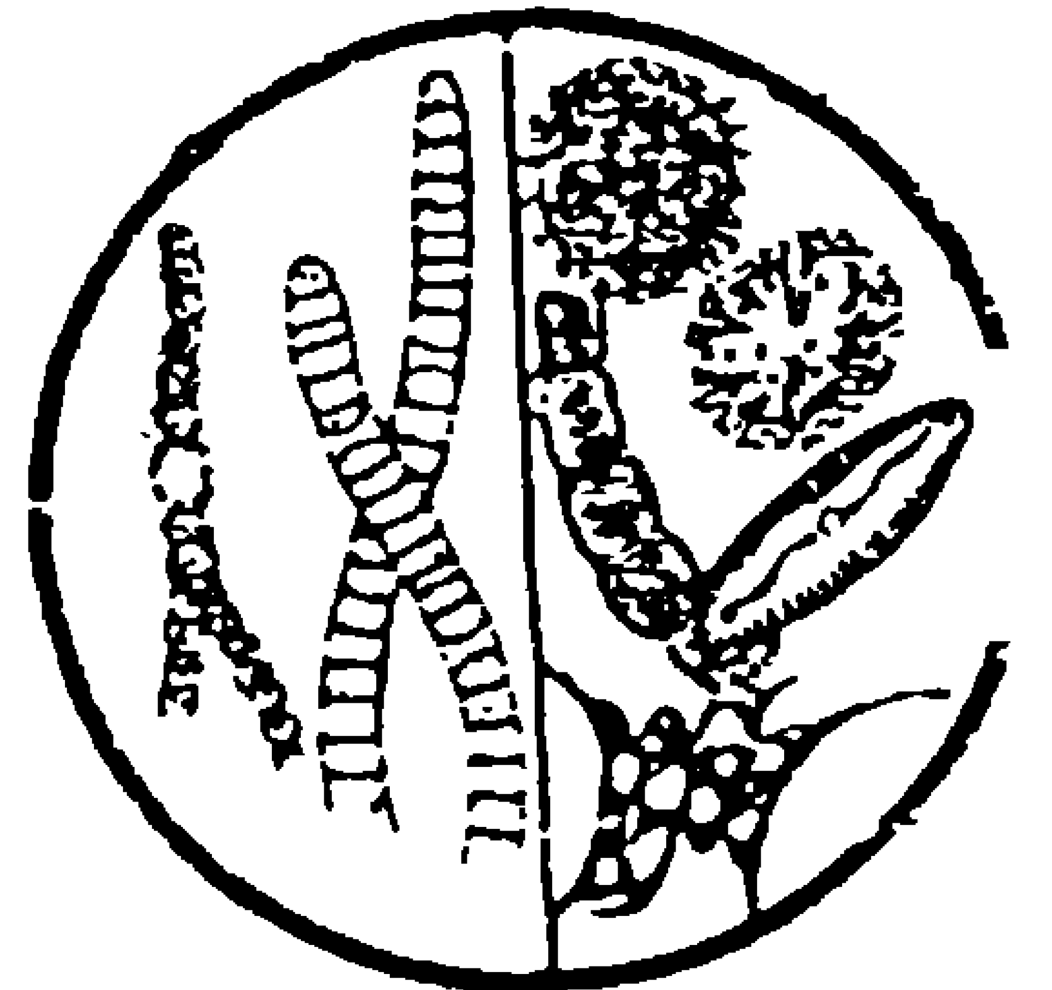
« البروتستا »

الفصل الرابع : الصفات العامة للأحياء الدقيقة حقيقية النواه .

الفصل الخامس : الطحالب ..

الفصل السادس : البروتوزوا ..

الفصل السابع : الفطريات والفطريات اللزجة .

الفصل الـرابع

الصفات العامة للأحياء الدقيقة حقيقية النواه (البروتستا)

General characteristics of eucaryotic microoganisms " Protists "

البروتستا هى مجموعة من الأحياء الدقيقة Microorganisms تحتوى على أنوية حقيقية مثلها فى ذلك مثل جميع الكائنات الراقية من نبات وحيوان . فخلايا النبات والحيوان تحتوى على أنوية حقيقية . وتتميز النواة الحقيقية عن النواه غير الحقيقية بوجود الغشاء النووى. فالنواة الحقيقية فى غير مراحل الانقسام المختلفة يكون لها غشاء نووى واضح بعكس النواة البدائية والتى ليس لها غشاء نووى .

وتتميز الكائنات ذات النواة الحقيقية (بما فى ذلك الأحياء الدقيقة وغيرها) بوجود مراكز محددة أوعضيات (تصغير أعضاء) Organelles مخصصة داخل الخلية للقيام ببعض وظائف الخلية . فمثلا تقوم البلاستيدات الخضراء بعملية التمثيل الضوئى ، بينما تقوم الميتوكوندريا Mitochondria بعمليات توليد الطاقة .

وتحتوى النواة على الصفات الوراثية للخلية . وفى كثير من الخلايا توجد عضيات Organelles أخرى للقيام بوظائف هامة ستناقش فيما بعد . كما أن انقسام الخلية ذات النواة الحقيقية والتكاثر الجنسى فيها أكثر تعقيدا مما يحدث فى الخلايا ذات النواة البدائية ، ولكن التعقيد الملحوظ فى التركيب الوظيفى للخلايا ذات النواه الحقيقيه لا يصحبه نفس الدرجة من التعقيد فى التركيب الكيميائى لهذه الخلايا .

وتشمل البروتستا Protists ثلاث مجموعات رئيسية متميزة . وهى الطحالب Algae ، والبروتوزوا Protozoa ، والفطريات Fungi . وكل مجموعة من هذه المجموعات ينتمى اليها عدد كبير من الأحياء المتنوعة تنوعا كبيرا . ومن أكثر الكائنات الحية تمثيلا لهذه المجموعات

الثلاث على التوالى هى عشب البحر Sea weeds وهو يمثل الطحالب بوضوح ، والهدبيات Ciliates وهى تمثل البروتوزوا Protozoa بوضوح ، وفطر عيش الغراب Mushroom وهو يمثل الفطريات بوضوح. وليست كل الكائنات التابعة للبروتستا Protists على نفس هذه الدرجة من الوضوح فى تقسيمها . وكثيراً ما يكون التقسيم بصفة تقريبية Arbitrary .. .. فهناك كائنات دقيقة لها بعض الصفات تشبه البروتوزوا ، وبعض الصفات تشبه الطحالب مثل اليوجلينا Euglena ، كما أن بعض الكائنات لها بعض صفات البروتوزوا وبعض صفات الفطريات ، مثل الفطريات اللزجة Slime mold . ولهذا السبب فانه لا يمكن تمييز خطوط حادة فاصلة بين المجموعات الثلاث التابعة للبروتستا ، ولكن – بصفة عامة – يمكن تعريف الطحالب Algae بأنها كائنات ذات نواة حقيقية ولا تتميز فيها سيقان أو أوراق أو جذور وتقوم بالتمثيل الضوئى الذى يصحبه انطلاق الأكسجين ، وتحتوى خلاياها على بلاستيدات خضراء Chloroplasts وبعض الطحالب وحيدة الخلية Unicellular وبعضها يكون مستعمرات Colonial من عدة خلايا ، وبعضها يكون خيوطا Filamentous من عدة خلايا ، وبعض الطحالب أيضا يكون تركيبات أكثر تطورا تشبه النباتات الراقية مع حدوث درجة محدودة جدا أو عدم حدوث أى تكشف Differentiation فى الخلايا أو الأنسجة ، كما أن الطحالب قد تكون وحيدة النواه Uninucleate أو متعددة الأنوية Coenycytic .

وعلى ذلك فالطحالب عبارة عن مجموعة كبيرة من الكائنات تختلف فيما بينها اختلافات كبيرة ، ولا يمكن اعتبار جميع أفرادها أحياء دقيقة Microorganisms حيث أن بعض الطحالب تعتبر كائنات كبيرة Macroor-ganisms ويمكن رؤيتها بوضوح بالعين المجردة . بل ان بعض الطحالب تصل فى الطول الى حوالى (٥٠) خمسون مترا مثل الطحلب البنى Brown algae المعروف بالكلب Kelp .

أما الفطريات Fungi والبروتوزوا Protozoa فكلاهما غير قادر على تمثيل الضوء ، ولا يحتويان على بلاستيدات خضراء أو حتى

كلوروفيل ، ولكن الاختلاف الأساسي بينهما ينحصر في أن البروتوزوا تكون دائما وحيدة الخلية Unicellular وغالبا وحيدة النواة Uninucleate وليس لها جدار خلوى ، بينما تكون الفطريات متعددة الأنوية Coenocytic .. وينمو في صورة خيطية Filamentous متفرعة تسمى الميسليوم Mycelium (فيما عدا عدد كبير من الخمائر وهي مجموعة الفطريات وحيدة النواة وحيدة الخلية وتتكاثر بالتبرعم Budding) ولها جدار خلوى .

ولأسباب تاريخية - كما سبق أن ناقشنا في الباب الأول - اعتبرت الطحالب والفطريات نباتات ، ودرست لدرجة كبيرة بواسطة علماء النبات . أما البروتوزوا ، فقد اعتبرت حيوانات .. ودرست لدرجة كبيرة بواسطة علماء الحيوان . ونتيجة لهذا الفصل التخصصي في الدراسة فان عددا من خطوط الاتصال بين هذه المجموعات الثلاث قد أغفل . وسنحاول في هذا الباب عرض التركيب التشريحي للأحياء الدقيقة ذات النواة الحقيقية بصفة عامة ، مع ايضاح الفروق الجوهرية فيما بينها من جهة ، وبينها وبين الكائنات ذات النواة البدائية من جهة أخرى .

الصفات العامة لذوات النواة الحقيقية

تتشابه الكائنات الحية ذات النواة الحقيقية في عدد من الصفات الهامة نعرض أهمها فيما يلي :

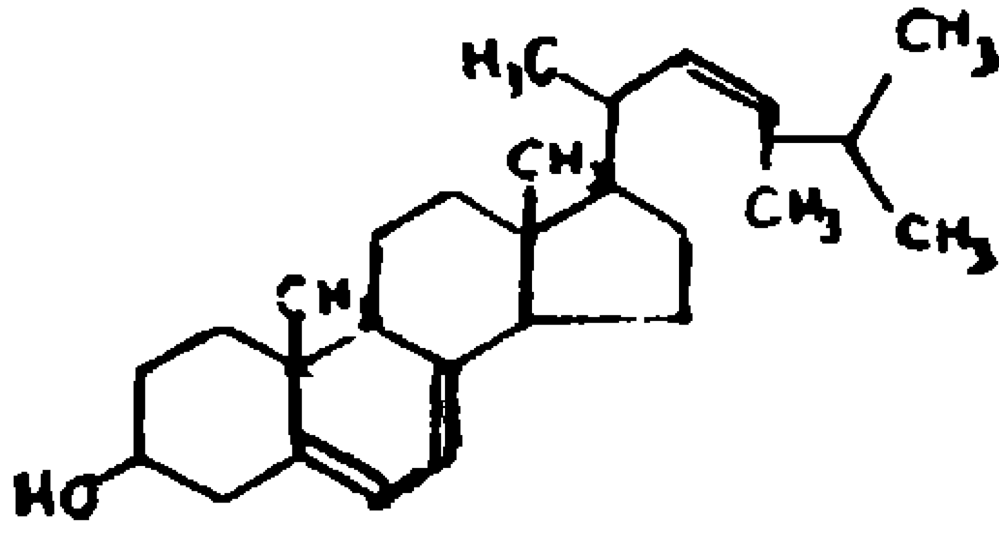
أولاً : وحدة الغشاء Unit membrane

تحاط جميع خلايا الأحياء الدقيقة ذات النواة الحقيقية (البروتستا) بغشاء خلوى Cellular membrane ويسمى أحيانا الغشاء السيتوبلازمي Cytoplasmic membrane أو الغشاء البلازمي Plasmic membrane . ويمكن رؤية هذا الغشاء بالمجهر الالكتروني مكونا من ثلاث طبقات ، كما في الغشاء الخلوى لذوات النواة البدائية (شكل ٩-٢) الذى يلي ذكره بالتفصيل في الفصل التاسع ، وسمك الغشاء حوالي

٨نانوميتر . والأغشية بهذا التركيب تسمى وحدة الغشاء Unit membrane.

ومن الدراسات المتوفرة حاليا يبدو أن الأغشية الخلوية فى كلا النوعين من الكائنات الدقيقة (ذوات النواة البدائية وذوات النواة الحقيقية) لهما تركيب بنائى متشابه الى حد كبير . والاختلافات الملحوظة فى أغشية النوعين من الخلايا محدودة (وربما تكون مهمة من حيث الوظيفة) مثل اختلاف نوعية الفوسفوليبيدات Phospholipids والبروتينات .. أما الاختلاف الأهم من ذلك فهو احتواء أغشية ذوات النواة الحقيقية على الستيرولات (شكل ٤_١) .. وتتميز الستيرولات بقدرتها على اعطاء الصلابة Rigidity للأغشية على عكس الأحماض الدهنية التى تكسب الأغشية المرونة Flexibility، فالأغشية الصناعية التى تصنع من فوسفوليبيدات مضافا اليها ستيرولات تكون أقل تسريبا Less leaky من تلك الأغشية المصنوعة من فوسفوليبيدات فقط ، ولا يعرف السبب فى أهمية أن تكون الأغشية الخلوية لذوات النواة الحقيقية ذات تركيب أصلب أو أكثر ثباتا من تركيب الأغشية الخلوية لذوات النواة البدائية ، الا أنه ربما يكون حجم الخلية هو السبب فى ذلك ، فالخلايا ذات النواة الحقيقية أكبر ، وبذلك يقع على أغشيتها ضغط Physical stress أكبر من ذلك الواقع على أغشية ذوات النواة البدائية .

هذا وتجدر الاشارة الى أن مجموعة من المضادات الحيوية Antibiotics والمعروفة باسم عديدات الكين Polyene مثل Filipin والنياستاتين Nystatin والكاندسدين Candicidin كلها تتفاعل مع السيترولات مما يذهب بثبات الأغشية الخلوية لذوات النواة الحقيقية اذا عوملت بأحد هذه المضادات الحيوية . وهذا يجعل ذوات النواة الحقيقية حساسة للمعاملة بهذه المجموعة من المضادات الحيوية ، ولكن الكائنات الحية ذات النواة البدائية (فيما عدا الميكوبلازما Mycoplasma) غير حساسة لهذه المضادات الحيوية نظرًا لعدم احتواء أغشيتها الخلوية على السيترولات . أما الميكوبلازما وهى لا تكون جدر خلوية فان السيترولات تدخل فى تركيب أغشيتها



شكل ٤ـ١ : التركيب البنائـــى لاحد السيترولات ـ أرجوسيترول الخميرة ٠

جدول ٤ـ١ : العضيات الداخلية التى لها غشاء فى ذوات النواة الحقيقية ووظيفتها ٠

العضيات الداخلية	خواصهـــــا	وظيفتهـــــا
ميتوكوندريا	حجمها مثل حجم البكتيريا وغشاؤها ذو ثنيات معقدة .	توليد الطاقة أثناء التنفس .
البلاستيدات الخضـــراء	تركيبات تحتوى على الكلوروفيل . لها أشكال متعددة وعادة كبيرة الحجم .	التمثيل الضوئى .
الشبكـــــة الاندوبلازميـــة Endoplasmic reticulum	وهى ليست عضية داخلية محددة ، وهى خطوط متعددة من الغشـاء الداخلى	بناء البروتينات فى الخلية .
أجسام جولجـــى Golgi bodies	تركيبات محددة ذات غشاء .	افراز الانزيمات والجزيئات الكبيرة الأخرى .
الفجوات Vacuoles	أجسام دائرية ذات غشاء تحتـــوى بداخلها على أجسام منخفضـــــة الكثافة الضوئيـــة	الفجوات الغذائية لهضم الغذاء . الفجوات المنقبضة لاخراج الفضلات .
الليســـوسومات Lysosomes	جسيمات متناهية الصغر ذات غشاء .	أجسام تحتوى على انزيمـات الهضم وتفرزها
بيرو أوكسيـــومات Peroxisomes	جسيمات متناهية الصغر ذات غشاء .	التنفس الضوئى فى النباتات .
جليوكسومات Glyo xomes	جسيمات متناهية الصغر ذات غشاء .	انزيمات دورة الجليوكسلات .
النواة Nucleus	جسيم كبير يتمركز فى وسط الخليـــة بصفة عامة .	يحتوى على المواد الوراثيـــة .

الخلوية، وهى أيضا حساسة لهذه المضادات الحيوية ·

ولا يقتصر وجود وحدة الغشاء على الغشاء الخلوي فقط فى الكائنات ذات النواة الحقيقية Eucaryotes بل أن بعض العضيات Organelles الداخلية فى الخلية تحتوى على أغشية مكونة من وحدة الغشاء Unit membrane مثلها فى ذلك مثل الغشاء الخلوى · والجدول (٤ ـ ١) يوضح العضيات الداخلية فى الخلية التى تحتوى أغشية مكونة من وحدة الغشاء Unit membrane ووظيفة هذه العضيات ، تقوم هذه الأغشية الداخلية بفصل هذه العضيات عن باقى مكونات البروتوبلازم الخلوى · وفيما يلى نستعرض أهم العضيات الداخلية ذات الأغشية الخلوية ·

ثانيا: الشبكة الاندوبلازمية Endoplasmic reticulum

وهى شبكة غير منتظمة من قنوات رفيعة متعددة تنتشر فى جميع أنحاء السيتوبلازم وتربط بين مكونين أساسيين من مكونات الخلية ، هما النواة nucleus والريبوسومات Ribosomes السيتوبلازمية · وجزء من هذه الشبكة الاندوبلازمية يحيط بالنواة مكونا الغشاء النووى Nuclear membrane ذو التركيب المميز والذى يحتوى على ثقوب عديدة ذات قطر حوالى ٤٠ نانوميتر ·

أما الأجزاء الأخرى من الشبكة الاندوبلازمية فتنتشر فى السيتوبلازم ، وتعرف باسم الشبكة الاندوبلازمية الخشنة Rough endoplasmic reticulum حيث يكون سطح الغشاء membrane surface مغطى بالريبوسومات السيتوبلازمية التى تكون البروتينات من المعلومات الوراثية الموجودة على الحمض النووى رن أ المرسال mRNA · ويعتقد أن هذا الحمض النووى رن أ المرسال mRNA يتكون من النواة ثم يمر خلال قنوات الشبكة الاندوبلازمية الى الريبوسومات لبناء بروتينات الخلية المختلفة · (أنظر مناقشة الأنواع المختلفة للأحماض لنووية دن أ DNA ، رن أ RNA فى الفصل الرابع عشر بالتفصيل) ·

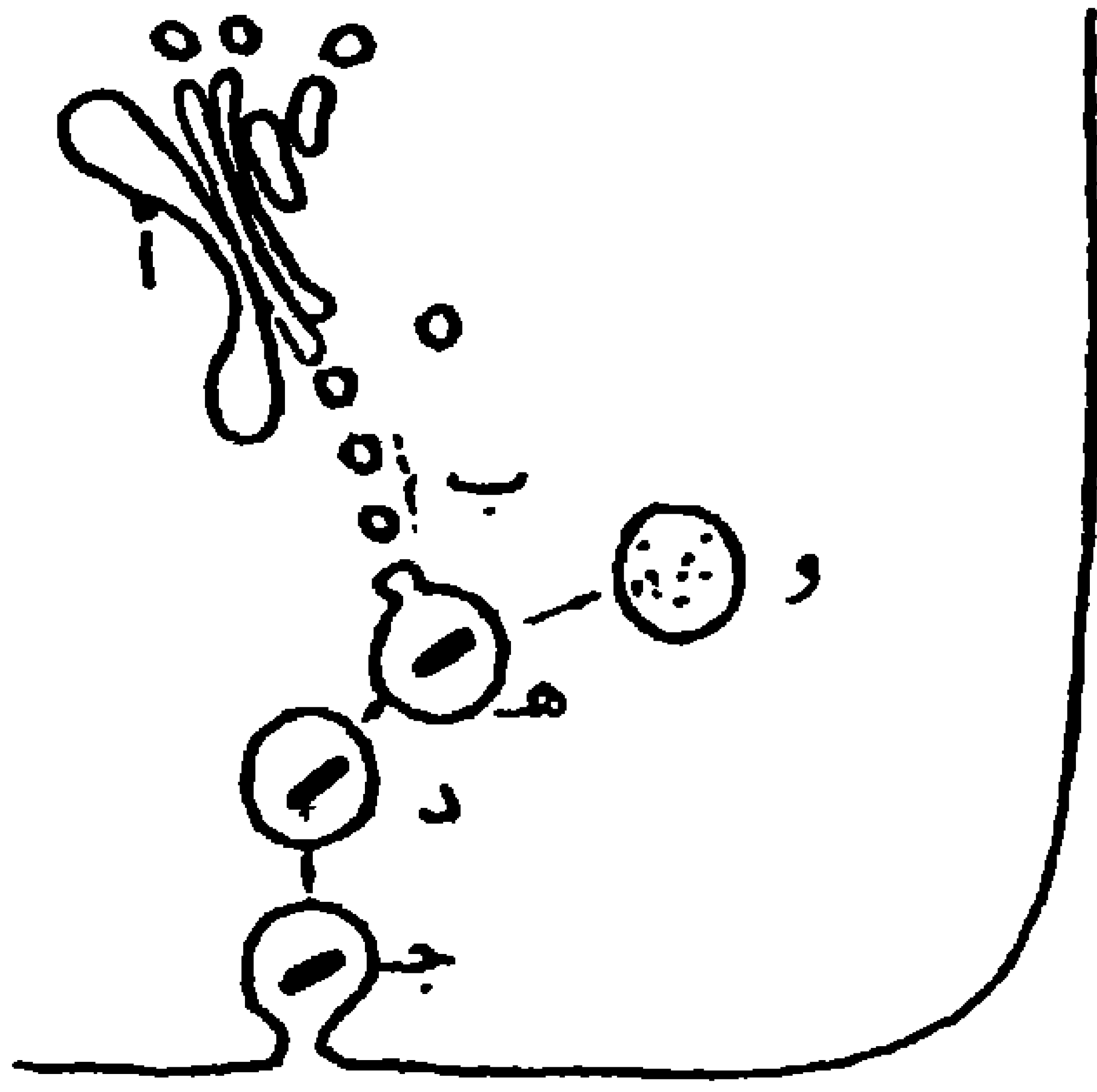
ثالثاً: أجسام جولجى Golgi apparatus

وهى عضيات غشائية داخلية تتكون من عدد من الأكياس والأوعية المفلطحة Flattened أو المضغوطة ذات أحجام مختلفة (شكل ٤_٢) ومحاطة بوحدة الغشاء Unit membrane وتعبأ المواد البروتينية المتكونة عند الشبكة الاندوبلازمية فى هذه الأجسام وتنقل هذه المواد البروتينية بواسطة هذه الأجسام من مكان لآخر كما أن هذه الأجسام ايضا تقوم بوظيفة اخراجية هامة فى بعض الكائنات حيث تعبأ المواد المرغوب التخلص منها فى أجسام جولجى ، وتتحرك هذه الأجسام صوب غشاء الخلية حيث تلتصق به ثم تنفجر الى الخارج لطرد هذه المواد المرغوب التخلص منها من الخلية ، وتعرف هذه العملية باسم Exocytosis .

رابعًا : أنظمة التمثيل الضوئى وتوليد الطاقة

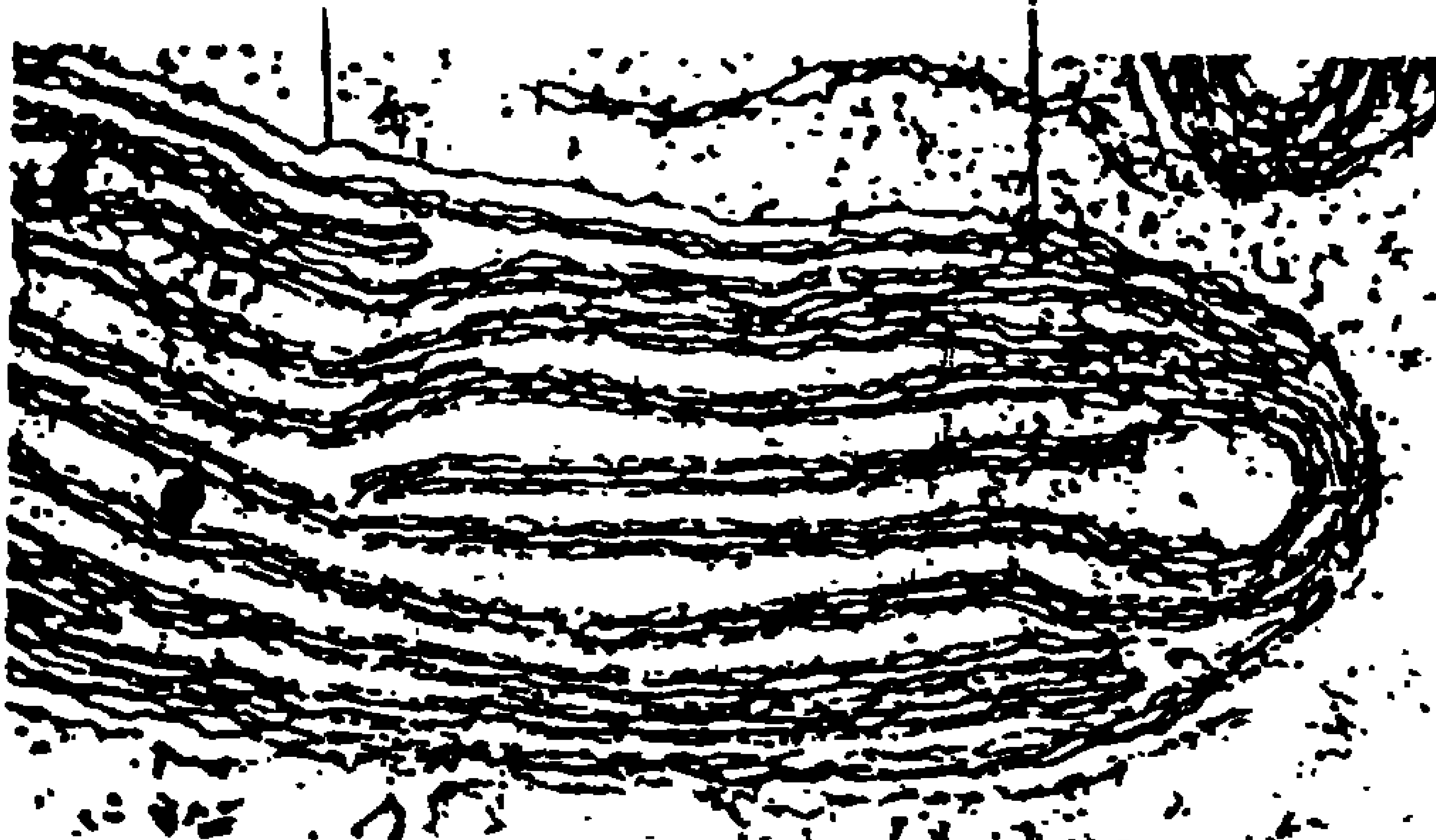
ان التمثيل الضوئى فى الأحياء ذوات النواة الحقيقية الممثلة للضوء وانتاج الطاقة فى ذوات النواة الحقيقية عموما يتم فى عضيتين غشائيتين Membrane-bound organelles وهما البلاستيدات الخضراء Chloroplasts (شكل ٤_٣) ، والميتوكوندريا Mitochondria (شكل ٤_٤) . وكلا العضيتين (البلاستيدات الخضراء والميتوكوندريا) يحتويان على نظم غشائية داخلية خاصة ، فالنظام الغشائى الخاص بالبلاستيدات يسمى Thylakoid وهى عبارة عن ثنيات كثيرة تحتوى بين طياتها صبغات التمثيل الضوئى Photosynthesis pigments ونظام انتقال الالكترونات Electron transport system ومراكز التفاعل الضوئى Photochemical reaction centers .

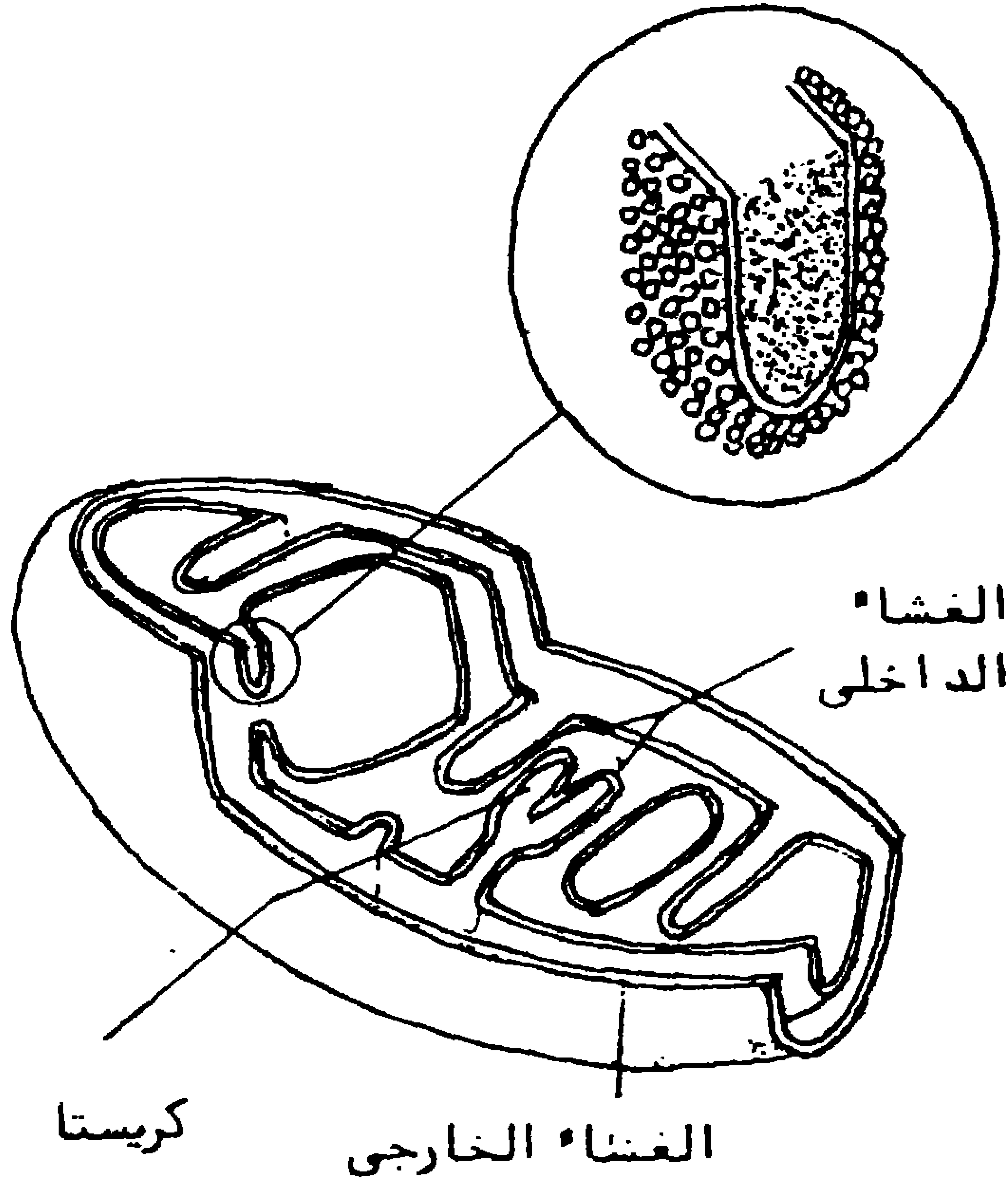
أما النظام الغشائى للميتوكوندريا فيسمى Cristae وهو أيضا عبارة عن ثنيات متعددة تحتوى بين طياتها على نظام انتقال الالكترونات التنفسى Electron transport system والانزيمات الخاصه به .



شكل ٤-٢ : رسم تخطيطى لأحداث الهضم داخل الخلية - أ - أجسام جولجى · ب - ليسوسومات ناتجة عن أجسام جولجى · جـ - تناول الغذاء (خلية بكتيرية) بالالتهام أو الابتلاع عند سطح الخلية وعند ها يحاط الغذاء بالكامل بالغشاء الخلوى · د - تكوين فجوة غذائية حديثة · هـ - اندماج الفجوة الغذائية مع ليسوسوم · و- هضم محتويات الفجوة الغذائية بواسطة الانزيمات المحللة الناتجة عن الليسوسومات ·

شكل ٤-٣ : صورة بالمجهر الالكترونى للبلاستيدة الخضراء فى الطحلب Ochromonas danica حيث توجد الثنيات thylakoid التى يتم فيها التمثيل الضوئى ·





شكل ٤ـ٤ : رسم تخطيطى للميتوكوندريا موضحا التركيب الداخلى المعقد للغشاء الداخلى Cristae والتى تحتوى على نظام انتقال الالكترونات التنفسى ٠

خامسًا : المواد الوراثيـــة فى حقيقية النواة The protists genome

تمثل النواة المركز الأساسى للمواد الوراثية فى الكائنات ذات النواة الحقيقية ، ولكن النواة ليست المركز الوحيد لهذه المواد الوراثية، ولكن جزء صغير من المواد الوراثية (ولكنه هام جدا من الناحية الوظيفيـة) يوجد فى الميتوكوندريا و (فى الكائنات ذات القدرة على التمثيل الضوئى) البلاستيدات الخضراء . ونظرا للاختلافات الجوهرية فى استنســـاخ Replication المادة الوراثية أو نسخ وترجمة المعلومات Transcr-iption and Translation فى كل من المواد الوراثية النووية من جهـة ، والمواد الوراثية العضية Organelle genome (الموجودة فـى الميتوكوندريا والبلاستيدات الخضراء) من جهة أخرى ، فسيتم هنـا مناقشة النوعين من المواد الوراثية بصورة منفصلة :

١ـ المادة الوراثية النووية : Nuclear genome

توجد المواد الوراثية النووية فى النواة Nucleus موزعة علـى عدد محدود من التركيبات المميزة المعروفة باسم الكروموسومـات Chromosomes وكل كروموسوم ذو تركيب خيطى .. ويحتوى على :

(١) الحمض النووى دى أوكس ريبونيكليك Deoxyribonucleic acid والذى يرمز له عادة بالرمز د ن أ DNA فى صورة مستقيمـة Linear وهو المركب الذى يحتوى على المعلومات الوراثية فـى ترتيب قواعده النيتروجينية الأربعة : الجوانين والآدنين والثيميـن والسيتوزين (وهى نفس القواعد الموجودة فى د ن أ DNA الخـاص بالكائنات ذات النواة البدائية Procaryotes).

(٢) بروتينات قاعدية خاصة تسمى الهستونات Histones .

(٣) بروتينات غير هستونية تقوم بدور خاص فى تنظيم نشاط المورثات Genes المختلفة .

فى الخلايا غير المنقسمة تكون النواة فى مرحلة Interphase فتظهر النواة محاطة بالغشاء النووى Nuclear membrane (شكل ٤ـ٥) ، يحتوى على عدد كبير من الثقوب ، ويكون كل كروموسوم فى حالة استطالة ولا يزيد فى هذه الحالة عن ٢٠ـ٣٠ نانوميتر . لذلك فعادة ما يصعب تمييزه بالمجهر الضوئى . أما النواة فانه من الممكن رؤيتها بالمجهر الضوئى دون صبغة حيث يصل قطرها الى عدة ميكرومترات الا فى ذوات النواة الحقيقية الصغيرة الحجم ، وهذه يلزم صبغها بصبغات خاصة حتى يمكن رؤية النواة فيها .

والثقوب الموجودة فى الغشاء النووى هامة ، اذ تسمح بتبادل الجزيئات الكبيرة بين داخل وخارج النواة ، فمثلا مكونات الريبوسومات تصنع داخل النواة ولكنها تباشر وظيفتها فى السيتوبلازم خارج النواة .

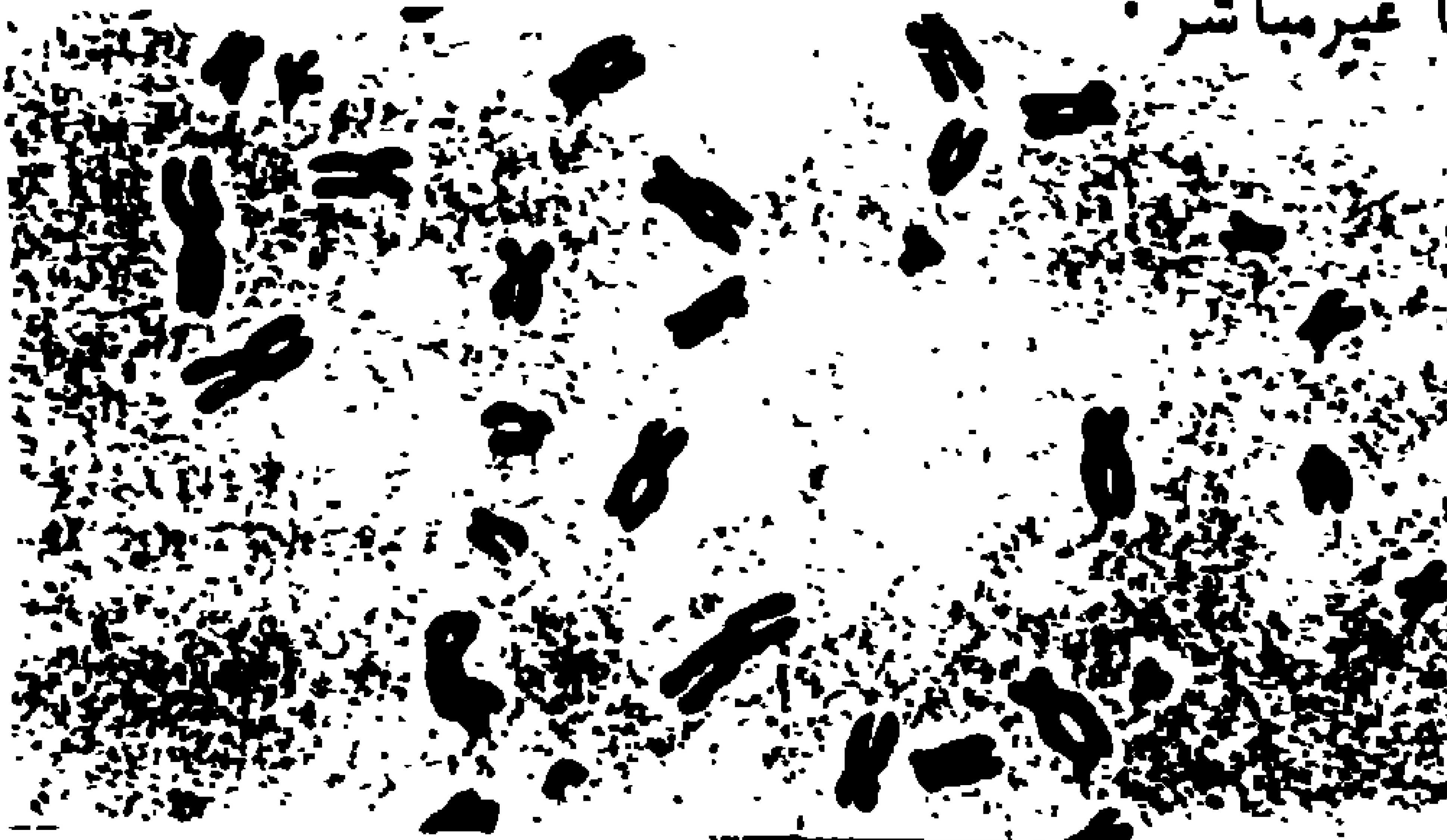
وعلاوة على الكروموسومات التى تشاهد فى النواة غير المنقسمة كثيرا ما يشاهد جزء خاص يسمى بالنوية Nucleolus وهى تصبغ بلون مختلف عن باقى النواة لاحتوائها على نسبة عالية من الحمض النووى ريبونيكليك Ribonucleic acid والذى يرمز له بالرمز (رنأ) RNA . والنوية هى مركز بناء الـ RNA الريبوسومى ribosomal RNA والذى يرمز له بالرمز ررنأ r RNA وهو مكون أساسى من مكونات الريبوسومات .

وعلى أى حال فان النوية تختفى أثناء الانقسام ، كما يختفى أيضا الغشاء الخلوى . وكلاهما يتكون ثانيا بعد تمام الانقسام .

ان مضاعفة المواد الوراثية ثم انقسامها عند تكوين خليتين من خلية واحدة هى عملية دورية معقدة تسمى بالانقسام غير المباشر Mitosis أو الانقسام الاختزالى Reduction division تلك الأخيرة تتم فقط فى الخلايا الجنسية فقط تمهيدا لاعداد الجاميطات gametes التى يتم التزاوج بينها لتكوين الزيجوت (اللاقحة) Zygote .



شكل ٤ ـ ٥ صورة بالمجهر الالكترونى لنواة خلية فأر مجهزة بطريقة Freezing etching حيث تم ازالة جزء الغشاء الخارجى لتظهر الثقوب من الداخل (أ) كما تظهر أيضا الثقوب من الخارج (ب)



شكل ٤ ـ ٦ : تحضير مصبوغ لكروموسومات احدي الخلايا حقيقية النواة فيما قبل انقسام الخلية انقساما غيرمباشر ٠

أ- الانقسام غير المباشر : Mitosis

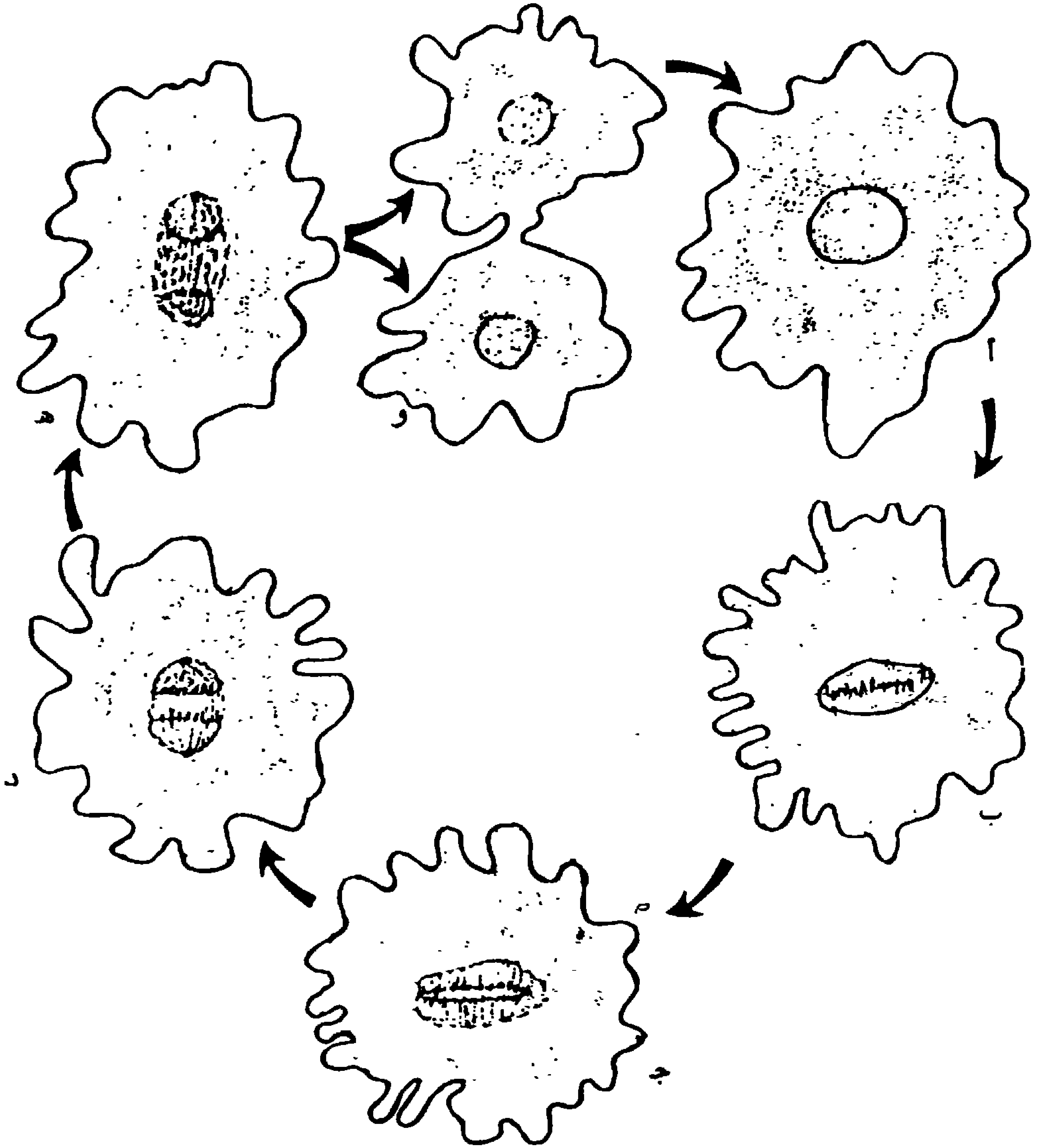
تحدث عملية استنساخ الـ DNA الكروموسومى فى المرحلة التمهيدية فى النواة الكاملة المسماة Interphase nucleus ، وعندما تبدأ عملية الانقسام غير المباشر Mitosis فان الكروموسومات تتلولب فى تركيبات كثيفة Compact قصيرة يمكن رؤيتها بالمجهر الضوئى (شكل ٤-٦) وتحتوى خلايا كل كائن حى على عدد محدد من الكروموسومات كصفة أساسية مميزة له .

ويصحب انكماش Shortening الكروموسومات تكوين مركزين طرفيين للنواة ... يتكون بينهما عدد من الأنابيب الرفيعة Microtubular structure على صورة مغزل Spindel يسمى جهاز الانقسام غير المباشر Mitotic apparatus .

... ويصحب تكوين جهاز الانقسام غير المباشر هذا اختفاء الغشاء النووى واختفاء النوية وتترتب الكروموسومات بعد ذلك فى وسط المغزل Spindel وينقسم كل كروموسوم طوليا الى نسختين طبق الأصل تسمى كل منهما بالكروماتيد Chromatide وتعرف هذه المرحلة باسم الـ Metaphase ثم تنفصل الكروماتيدات وتتجه كل كروماتيد الى أحد المركزين الطرفيين على أنابيب المغزل الدقيقة ثم يختفى المغزل بعد ذلك . ويبدأ تكوين الغشاء النووى ويختفى المركز الطرفى فى المرحلة النهائية Terminal phase من الانقسام غير المباشر (شكل ٤-٧).

ب- الانقسام الاختزالى : Meiosis or Reduction division

الانقسام الاختزالى هو العملية التى يتم بها التغير من حالة ازدواجية الكروموسومات Diploid الى حالة احادية الكروموسومات Haploid ففى حين أن عملية الانقسام غير المباشر Mitosis تؤدي الى مضاعفة عدد الكروموسومات الى الضعف فى بداية الانقسام بحيث



شكل ٤ ـ ٧ : دورة انقسام الخلايا (الأميبا) حقيقية النواة .

أ ـ تتضاعف مكونات الخلية من الأحماض النووية والبروتينات .

ب ـ تنكمش الكروموسومات وتتلولب .

جـ ـ يبدأ الغشاء النووي في الاختفاء وتصطف الكروموسومات على وسط المغزل الذي تكون حديثا .

د ـ تنفصل الكروماتيدات وتتجه الى طرفي المغزل .

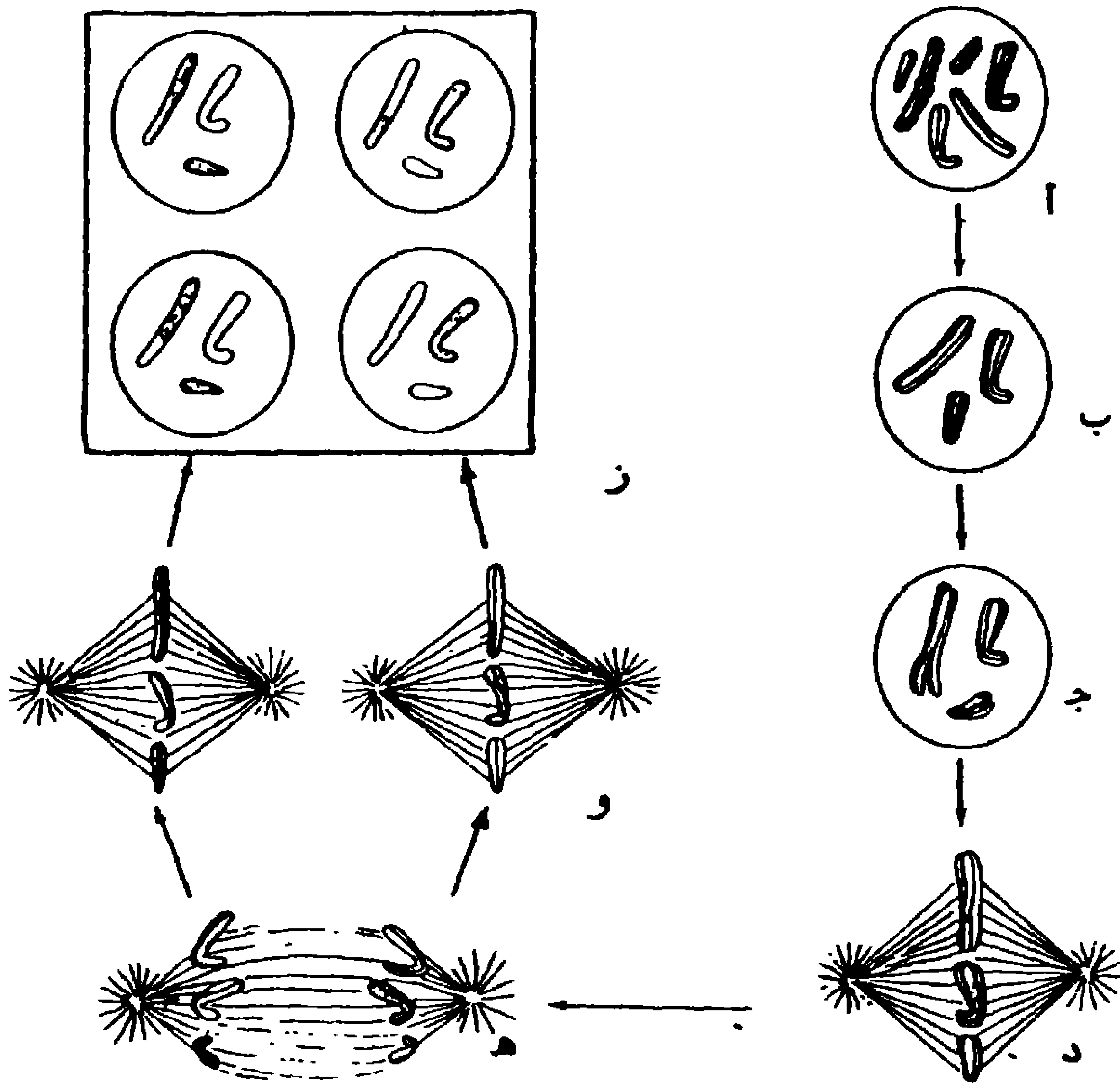
هـ ـ يبدأ تكوين نواتين في طرفي الخلية .

و ـ ينتهي الانقسام بتكوين الغشاء النووي للأنوية الجديدة وانفصال الخليتين .

تحتوى الخلايا الناتجة بعد الانقسام على نفس العدد من الكروموسومات قبل الانقسام . نجد أن عملية الانقسام الاختزالى Meiosis تؤدى الى اختزال عدد الكروموسومات فى الخلايا الناتجة بعد الانقسام الى نصف عدد الكروموسومات قبل الانقسام . وهذه الخلايا الناتجة عن الانقسام الاختزالى هى الخلايا الموجودة فى حالة أحادية المجموعة الكروموسومية (الصبغية) Haploid وهى التى تكون الجاميطات Gametes أو ال germ cells (شكل ٤ـ٨) .

توجد الكروموسومات فى الخلايا مزدوجة الكروموسومات Diploids فى أزواج متشابهة Homologs باستمرار . وأثناء الانقسام الاختزالى يتجه كروموسوم واحد من كل زوج الى جاميطة من الجاميطات المتكونة. ويتم ذلك نتيجة تحرك كروموسوم واحد من كل زوج على المغزل الى كلا من المركزين الطرفيين وتصبح الخليتين الناتجتين عن الانقسام محتويتان على نصف عدد الكروموسومات وغالبا ما يتم انقسام ثانى من نوع الانقسام غير المباشر فى كلا الخليتين المذكورتين الناتجتين عن الانقسام الاختزالى وتتكون أربع خلايا Haploid كل منها تحتوى على نصف عدد الكروموسومات فى الخلية ال Diploid الأصلية .

والانقسام الاختزالى الذى يؤدى الى انتاج الخلايا أحادية الكروموسومات Haploid هام جدا لاستمرار الأجناس المختلفة التى تتكاثر بالتزاوج ، واذا اشتركت هذه الخلايا ال Haploid فى التزاوج والاخصاب مباشرة فانها تسمى جاميطات Gametes . ولكن فى عدد كبير من الأحياء الدقيقة تنمو الخلايا ال Haploid نموا خضريا قبل التحول الى جاميطات . وفى عدد من الأحياء الدقيقة تتحول خلايا ال Haploid الى جراثيم Spores (وهى أطوار كامنة للكائنات الحية تلعب دورا هاما فى استمرار الكائنات فى الطبيعة لقدرتها على مقاومة الظروف غير المناسبة) .. وعند توفر الظروف البيئية المناسبة تنبت هذه الجراثيم مكونة الخلايا التى تنمو خضريا Haploid ، ومكونة جاميطات تتحد لتكون كائنات مزدوجة المجموعة الكروموسومية Diploid .



شكل ٤ ـ ٨ : رسم تخطيطي لخطوات الانقسام الاختزالي في خليـــة مزدوجة المجموعة الكروموسومية .

أ ـ ثلاث أزواج من الكروموسومات (الصبغات) .
ب ـ يتزاوج كل كروموسومين متشابهين .
جـ ـ يحدث تبادل للمواد الوراثية بين كل كروموسومين متشابهين .
د ـ تصطف ازواج الكروموسومات عند منتصف المغزل بعد اختفاء الغشاء النووي .
هـ ـ تنفصل ازواج الكروموسومات عن بعضها وتتجه الى قطبي المغزل
و ـ يتكون مغزلين جديدين في كلا الطرفين تمهيدا لانقسام غير مباشر
ز ـ تتكون ٤ أنوية كل منها تحتوي على نصف عدد الكروموسومات فـــي النواة الأصلية .

وفى الكائنات الدقيقة المختلفة تحدث اختلافات كثيرة فى هــــذه العمليات وسيتم شرح نماذج لذلك فى الأجزاء التالية من هذا الباب . وبالرغم من الاختلافات العديدة بين الكائنات الدقيقة فى هذه العمليات فانها كلها تؤدى الى نفس النتيجة ، وهى تبادل أجيال أحاديـــــة الكروموسومات(N) Haploid وأجيال ثنائية الكروموسومات (2N) Diploid .

تختلف الكائنات الدقيقة ذات النواة الحقيقية اختلافا كبيـــرا فى درجة الاختلاف الواضحة بين الجنسين . فبينما نجد أن بعــــض الفطريات لا تتميز فيها الذكور عن الاناث . الا أن بعض الفطريـــات الأخرى تنتج جاميطات مذكرة مختلفة تماما عن الجاميطات المؤنثــــة Sexual dimorphism . فمثلا تكــــون الجاميطات المذكرة متحركــــة ، بينما تكون الجاميطات المؤنثة غير متحركة . وعند اتحاد الجاميطـــات المختلفة جنسيا يتكون الزيجوت Zygote والمحتوى على عدد مــــن الكروموسومات 2N . وعادة ما يطلق لفظ Diploid على الكائــن الحى الذى يقضى معظم دورة حياته على الحالة الذى تكون خلايـــاه فيه مزدوجة الكروموسومات Diploid . ويطلق على الكائن الحى لفــظ Haploid اذا كان يقضى معظم دورة حياته على الحاله الـــذى تكون خلاياه فيه أحادية الكروموسومات Haploid (N).

والتكاثر الجنسى Sexual reproduction شائع الحدوث فـــى دورة حياة النبات والحيوان . وهو الطريقة الوحيدة للتكاثر فى الفقاريـات وعدد كبير من اللافقاريات. بينما تتكاثر كثير من اللافقاريات بطـرق لا جنسية ، وكذلك كثير من النباتات الراقية (مثل التكاثر بالعقل) ... أما فى البروتستا Protists فان التكاثر الجنسى نادرا ما يكــــون اجباريا Obligatory فى دورة الحياة . بل ان عددا كبيرا مــــن الكائنات الدقيقة ذات النواة الحقيقية ليس لها طور جنسى فـــى دورة حياتها . وحتى فى الأنواع التى لها طور جنسى فى دورة حياتها فـــان التكاثر الجنسى قد يندر الحدوث . ولكن تكوين كائنات جديدة عـــادة ما يتم بطرق غير جنسية مثل التكاثر بالانقسام البسيط أو الجراثيــــم اللاجنسية .

٢ـ المواد الوراثية العضية (غير النووية)

Organellar genomes

توجد المواد الوراثية (DNA) العضية (غير النووية) في كل من البلاستيدات الخضراء والميتوكوندريا في صورة حلقية وغير مرتبطة مع الهستونات ٠

ولذلك فان المواد الوراثية DNA العضية للكائنات ذات النواة الحقيقية تشبه لحد كبير المواد الوراثية DNA الموجودة في الخلايا ذات النواة البدائية Procaryotes رغم أنها ذات حجم أصغر كثيرا من تلك الأخيرة ٠

يوجد في كل عضية نسخ عديدة من نفس المواد الوراثية ، فمثلا تحتوى البلاستيدات الخضراء على حوالي ٤٠ـ٥٠ نسخة من جزيئ دن أ DNA كما تحتوى كل عضية على أنظمة بناء البروتين من نسخ وترجمة Transcription & Translation للمعلومات الوراثية حيث تحتوى كلا من البلاستيدات الخضراء والميتوكوندريا على ريبوسومات عضية خاصة (70S) أصغر من الريبوسومات السيتوبلازمية (80S) ٠ وهذه الريبوسومات العضية تشبه الريبوسومات الموجودة في ذوات النواة البدائية ، كما أن بناء البروتين في عضيات الخلية مثل الميتوكوندريا والبلاستيدات الخضراء يمكن تثبيطه بمثبطات بناء البروتين لذوات النواة البدائية والعديمة التأثير على تثبيط البروتين على الريبوسومات 80S مثل الكلورامفينكول Chlbramphinicol وغيرها من مثبطات بناء البروتين الخاصة بتثبيط بناء البروتين على ريبوسومات 70S ٠ لذلك فان الميتوكوندريا والبلاستيدات الخضراء تبدو مشابهة جدا للكائنات ذات النواة البدائية ٠ كما أن الميتوكوندريا بصفة خاصة لها صفة أخرى تميزها عن باقي مكونات الخلية الأخرى ، وهي أنها تنتج نتيجة انقسام الميتوكوندريا الأصلية ٠ وهذا يحدث أيضا في البلاستيدات الخضراء الخاصة بالعديد من الطحالب ، الا أن البلاستيدات الخضراء الخاصة بالنباتات الراقية تتكون من أنظمة أبسط منها تسمى البلاستيدات البدائية Proplastids .

وهذا التشابه بين الكائنات ذات النواة البدائية Procaryotes وتلك العضيات الداخلية لذوى النواة الحقيقية Eucaryotes (وهما الميتوكوندريا والبلاستيدات الخضراء) يمثل خطا هاما فى مراحل تطور هذه الأعضاء ، اذ أن هذا التشابه يقترح أن هذه العضيات نشأت فى الخلية كنتيجة لدخول كائنات ذات نواة بدائية فى داخل الكائنات ذات النواة الحقيقية ليعيشا معا فى حالة تكافل Symbiosis ثم فقدت الأولى (ذات النواه البدائية) وظائف هامة بمرور الزمن ، وأصبحت غير قادرة على الاستقلال بمعيشتها ، كما أن الثانية (ذات النواة الحقيقية) قد أصبح اعتمادها على الأولى أساسيا لتوليد الطاقة أو للتمثيل الضوئى . وبذلك يكون قد تولد نوع من التعاون الاجبارى Obligatory symbiosis .

سادسًا : نظام الأنابيب الدقيق Microtubular system

وهى عنصر تركيبى هام فى الكائنات ذات النواة الحقيقية من حيث قيامها بعدة وظائف هامة . والأنبوبة الدقيقة Microtubule عبارة عن أسطوانة متناهية الصغر قطرها حوالى ٢٠ ـ ٣٠ نانوميتر ، وذات أطوال مختلفة وتتكون جدرها من وحدات بروتينية يصل وزنها الجزيئى الى ٥٠,٠٠٠ الى ٦٠,٠٠٠ ويمكن أن تتركب فى صورة أشعة .

ونظام الأنابيب الدقيق هذا يقوم بالوظائف الآتية :

أ ـ تكوين شبكة المغزل التى يتم عليها الانقسام وانتقال الكروموسومات الى المراكز الطرفية .

ب ـ تلعب دورا فى تكوين وصيانة الشكل العام لبعض الخلايا ذات النواة الحقيقية .

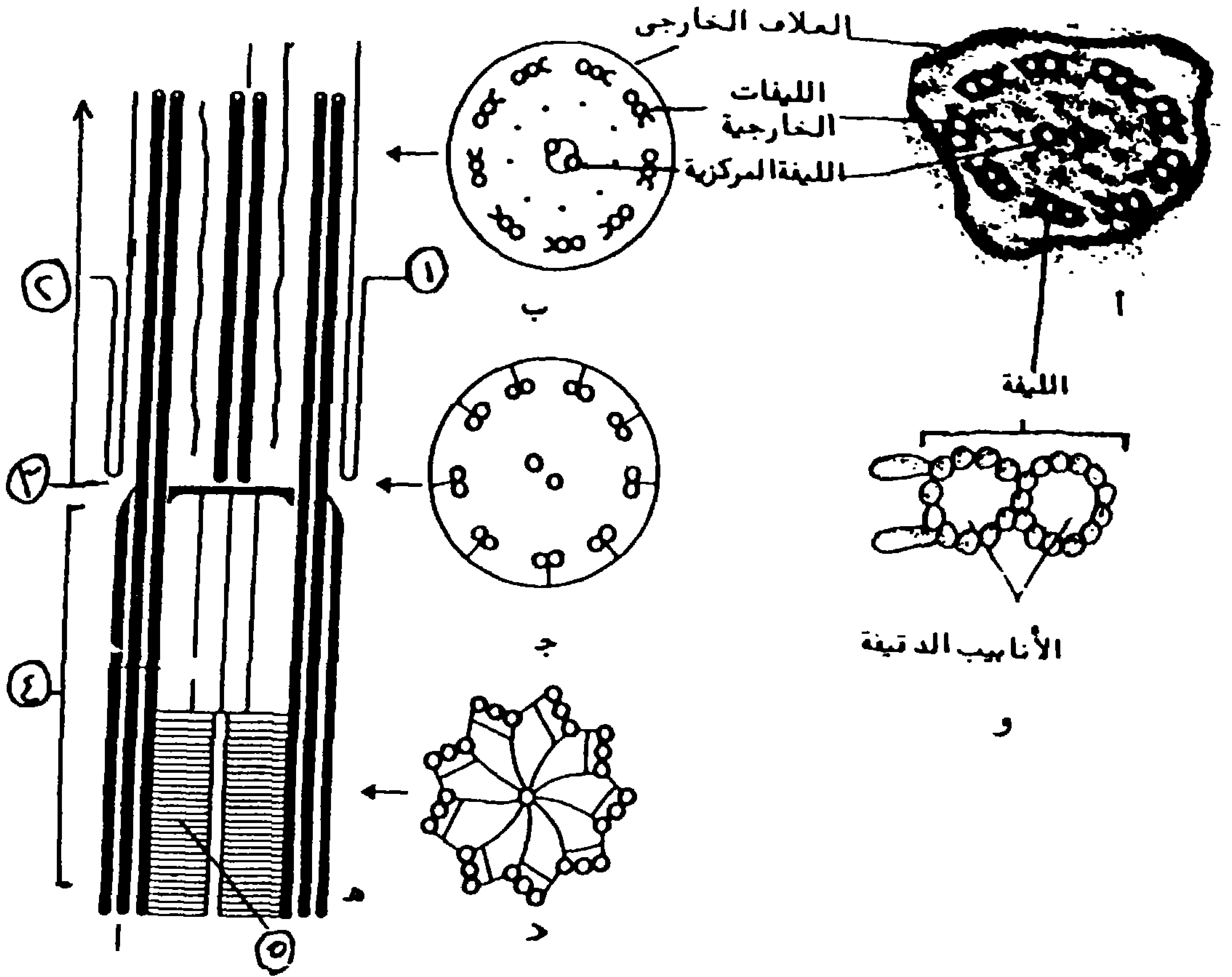
جـ ـ تلعب دورا هاما فى أجهزة الحركة فى ذوات النواة الحقيقية مثل الأسواط Flagella والأهداب Cilia . فالهدب أو السوط يتكون من امتداد للغشاء الخلوى يحتوى على تسعة

أزواج أنابيب دقيقة خارجية محيطة بزوج أنابيب فى مركز السوط أو الهدب (شكل ٤ـ٩) ٠ الزوج المركزى من الأنابيب يتكون من قاعدة قرب سطح الخلية ، أما الأزواج التسعة المحيطية فهى تنشأ من جسم مركزى يسمى Centriole والذى يتكون أيضا من تسعة أزواج من الأنابيب الدقيقة Microtubules ٠ وفى بعض ذوات النواة الحقيقية يشترك الجسم المركزى Centriole فى تكوين المغزل Spindle الذى يشترك فى الانقسام غير المباشر ، وذلك لوجود هذه الأجسام المركزية قرب قطبى المغزل ٠

سابعًا : أجهزة تنظيم الضغط الأسموزى

Osmoregulation systems

تعيش معظم الأحياء الدقيقة حرة Free living فى بيئات مائية ذات ضغط أسموزى أقل كثيرا من الضغط الأسموزى داخل الخلية ٠ ونظرا لأن الغشاء الخلوى منفذ للماء (وليس لكل العناصر الذائبة فيه) بحرية٠ لذلك فان هناك ميلا لدخول الماء الى الخلية باستمرار حتى يتعادل الضغط الأسموزي ... لذلك فان الخلية قد تنتفخ الى أن يحدث الانفجار الأسموزى Osmotic lysis ما لم يكن هناك نظاما آخر لمعادلة استمرارية دخول الماء الى الخلية فى كثير من البروتستا (مثل الفطريات والطحالب) يمنع حدوث الانفجار الأسموزى بوجود الجدار الخلوى الصلب Cell wall ٠ ولكن فى بعض البروتستا (مثل البروتوزوا) لا يوجد جدار خلوى ٠ ولكن يوجد نوع خاص من الفجوات يسمى الفجوات المنقبضة Contractile vacule تعمل كطلمبة خلوية تقوم بجمع الماء من الخلية على فترات ثم ضخه للخارج ٠ واخراج الماء للخارج هو جزء من وظيفة الاخراج Exocytosis التى تقوم بها الخلية ٠ والجزء الآخر من وظيفة الاخراج يشمل اخراج الفضلات الصلبة ، وهى أيضا تسمى Exocytosis .



شكل ٤ ـ ٩ : تركيب أسواط حقيقية النواة :

أ ـ صورة بالمجهر الالكترونى لقطاع عرضى فى سوط حقيقية النواة .

ب ـ رسم تخطيطى لقطاع عرضى لايضاح كيفية ترتيب الأزواج التسعة من الأنابيب الدقيقة حول زوج الأنابيب المركزية فى الأسواط والأهداب

جـ ـ رسم تخطيطى لقطاع عرضى لايضاح ترتيب الأنابيب الدقيقة عند غشاء الخلية .

د ـ رسم تخطيطى لقطاع عرضى لايضاح ترتيب الأنابيب الدقيقة فى الجسم القاعدي للسوط داخل جسم الخلية .

هـ ـ رسم تخطيطى لقطاع طولى فى السوط من الجسم القاعدي للسوط ثم غشاء الخلية ثم السوط الخارجى .

١ ـ الغشاء الخلوي . ٢ ـ السوط فوق السطح القاعدي .

٣ ـ السطح القاعدي للسوط

٤ ـ الجسم القاعدي للسوط

٥ ـ الأسطوانة .

و ـ رسم توضيحى لترتيب البروتينات المكونة للألياف وهى عبارة عن نوعين من البروتينات مرتبه بالتبادل فى صورة حلزونية حول محور الليفة .

ثامناً: الحركة السيتوبلازمية Cytoplasmic streaming

بفحص العديد من الكائنات الدقيقة ذات النواة الحقيقية وجد أن السيتوبلازم فى معظم هذه الكائنات يتحرك حركة داخلية نشطة تسمى Cytoplasmic streaming وتؤدى هذه الحركة الداخلية السيتوبلازمية دورا هاما فى نشاطات الخلية مثل :

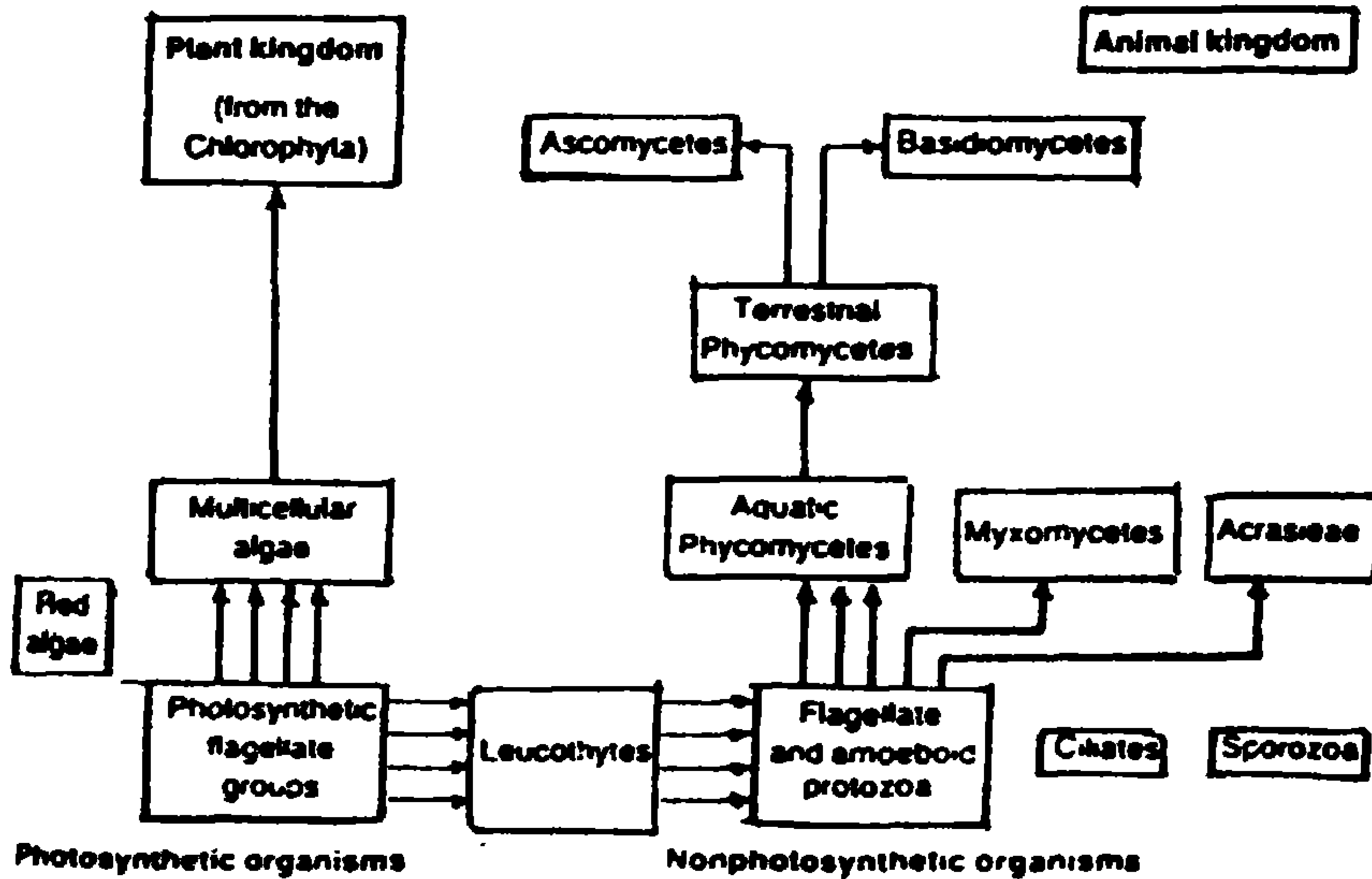
١ ـ ترتيب البلاستيدات الخضراء فى خلايا الطحالب عند تعرضها للضوء .
٢ ـ تركيز الميتوكوندريا فى مواقع معينة من الخلية .
٣ ـ الدور الذى تلعبه أجسام جولجى فى النقل الداخلى .
٤ ـ تحرك الكروموسومات أثناء عمليات الانقسام المباشر والانقسام الاختزالى .
٥ ـ حركة الفجوات المنقبضة لطرد الماء الزائد عن حاجة الخلية .

كما أن الحركة السيتوبلازمية تؤدى الى حركة خلايا البروتستا التى ليس لها جدار خلوى على سطح البيئات الصلبة كما فى حركة الأميبا والفطريات اللزجة .

هذا .. وسنخصص الفصول الثلاثة التالية لمناقشة كلا من الطحالب والبروتوزوا والفطريات كلا على حدي ،ولا بد لنا أن نعترف سلفا بأن فصلا واحدا لا يكفى لتغطية كل مجموعة من هذه المجموعات البيولوجية الضخمة . فالطحالب وصل عددها الى أكثر من ٢٠٫٠٠٠ نوع والبروتوزوا وصل عددها الى أكثر من ٢٠٫٠٠٠ نوع والفطريات وصل عددها الى أكثر من ٨٠٫٠٠٠ نوع .

وسنقتصر ـ فقط ـ هنا على عرض أهم الصفات لكل مجموعة مع التمثيل كلما كان ذلك ممكنا . وللحصول على معلومات أكثر عن تلك الكائنات لا بد من الرجوع الى بعض المراجع المتخصصة لأى منها (أنظر قائمة المراجع) . ولسوء الحظ أنه لا يوجد كتاب واحد شامل للمجموعات

الثلاث • ومما يزيد الأمر سوءا أن كلا من علماء النبات وعلماء الحيوان قد استخدما مصطلحات علمية Terminology مختلفة لتسمية أجزاء أو أشياء بعينها فى بعض الكائنات التى اختلفت عليها الآراء من حيث كونها تتبع المملكة النباتية أو المملكة الحيوانية • وعلاوة على ذلك فان المعاملة التقسيمية لبعض الكائنات مثل الطحالب البيضاء Leucophytes وبعض الطحالب السوطية والفطريات اللزجة بواسطة كلا من علماء النبات وعلماء الحيوان قد أهملت بعض صفات القرابة الهامة بين هذه المجموعات • وسنحاول فى الباب الحالى علاوة على الأبواب الثلاثة التالية دراسة العلاقات التطورية بين هذه الكائنات • والشكل (٤ ـ ١٠) يوضح العلاقة المقترحة لتطور الكائنات المختلفة من السوطيات الممثلة للضوء Photosynthetic flagellates حسب ستانير وآخرين ١٩٧٦.



شكل ٤ ـ ١٠ : علاقة تطورية افتراضية بين مجموعات الأحياء حقيقية النواة • الأسهم بين المستطيلات المختلفة توضح اتجاه التطور • حينما وجد أكثر من سهم بين مستطيلين فان ذلك يدل على عدة مراحل تطورية بين المجموعتين • أما المستطيلات غير المتصلة بأسهم فهى تحتوى على أحياء علاقتها التطورية غير واضحة فى الوقت الحالى • •

الوضع التقسيمي للأحياء الدقيقة حقيقية النواة

لقد أشرنا في مقدمة هذا الكتاب الى أن تقسيم الكائنات الحية وانتسابها قد مر بمراحل مختلفة عديدة ..

فقد توصل الانسان منذ القدم الى أنه يمكن تقسيم كل الكائنات الحية الى نوعين من الكائنات (الحيوانية والنباتية) ، واستمر ذلك الى أن نشر داروين كتابه سنة ١٨٥٩م عن التطور وأسماه (أصل الأنواع) Origin of species فأصبح تقسيم الكائنات مبنيا على مدى القرابة والرقي . وتوصل الكثير من العلماء الى اكتشاف كائنات دقيقة تشبه النباتات من ناحية وتشبه الحيوانات من ناحية أخرى والطحالب كائنات ذات نواة حقيقية تستطيع القيام بالتمثيل الضوئي ، ولكنها لا تتميز فيها سيقان أو أوراق أو جذور علاوة على ذلك فالكثير منها متحرك حركة نشطة ، وهذه استقر بها الحال لزمن طويل في المملكة النباتية ، أما الفطريات فرغم أنها حتى لا تستطيع القيام بالتمثيل الضوئي فقد وضعت في المملكة النباتية لعدم وجود الحركة النشطة في معظمها ووجود جدار خلوى مميز . أما البروتوزوا ، وهي تتميز بالحركة النشطة وعدم وجود الكلوروفيل فقد ضمت للمملكة الحيوانية . هذا مع وجود تداخلات واضحة بين المجموعات الثلاثة ، كما سنرى في الفصول الثلاثة التالية .

وقد أدى عدم اقتناع عدد كبير من البيولوجين وعدم رضاهم عن تقسيم بعض الكائنات الدقيقة لكلا المملكتين الى قيام أحد تلاميذ داروين وهو E. Haeckle باقتراح مملكة ثالثة سماها مملكة البروتستا لتشمل كل الكائنات الدقيقة الطحالب والبروتوزوا والفطريات بما فيها البكتيريا ، ثم فصلت البكتيريا بعد ذلك عن الفطريات لأسباب جوهرية كما ذكرنا في مملكة ذوات النواة البدائية .

وسنخصص الفصول الثلاثة التالية للبروتستا (الخامس للطحالب) ، (السادس للبروتوزوا) ، (السابع للفطريات) .

الفصل الخامس

الطحالب The Algae

الطحالب عبارة عن مجموعة كبيرة من الأحياء (أكثر من ٢٠٫٠٠٠ نوع) تختلف كثيرا في المظهر الخارجي Morphological وفي وظائف الأعضاء Physiological .

تحتوى جميع الطحالب على الكلوروفيل Chlorophyll الذى يقوم بالتمثيل الضوئي المصاحب لانتاج الأكسجين ٠٠ ورغم أن كلمة طحالب Algae حتى وقت قريب ـ كانت تشمل الطحالب التابعة للبروتستا Protists (الطحالب ذات النواة الحقيقية Eucaryotic algae) والطحالب التابعة للكائنات ذات النواة البدائية Procaryotic algae (وكانت تسمى بالطحالب الخضراء المزرقة Blue green algae) أما الآن فان هذه الطحالب توضع في مملكة ذوات النواة البدائية Kingdom procaryotae وتسمى بالسيانو بكتيريا cyanobacteria أو البكتيريا الخضراء المزرقة Blue green bacteria تمييزا لها عن الطحالب ذات النواة الحقيقية) ٠

وبالرغم من أن عددا من أعشاب البحر Sea weeds تنمو في الطول الى أكثر من خمسين مترا ـ خارجة بذلك عن نطاق هذا العلم كما عرفناه في الباب الأول ٠٠٠ الا أن معظم الطحالب ذات طبيعة مجهرية مما يبرر وضع هذه الكائنات (الطحالب) ضمن أقسام الأحياء الدقيقة ٠ ومع ذلك فان أعشاب البحر هذه كثيرا ما يصعب تمييزها عن غيرها من النباتات غير الطحلبية مثل الحزازيات Mosses والسرخسيات Ferns .

ولوضع خط فاصل بين الطحالب وغيرها من النباتات الشبيهة كالسرخسيات Ferns والحزازيات Mosses فان الصفة التي تميز جميع الطحالب هو قدرتها على انتاج جراثيم Spores أو جاميطات Gametes داخل نظام وحيد الخلية ، بينما حتى أبسط الحزازيات Mosses تحمل الخلايا الجنسية داخل تراكيب محاطة بالجدران

الخلوية لعديد من الخلايا Multicellular walls .

وعلى أى حال فان الطحالب تقسم ـ مبدئيا ـ بناء على الصفات الخلوية (وليس على أساس خواص الكائن كله) مثل التركيب الكيميائى للجدار الخلوى ـ ان وجد ـ والمواد العضوية المخزنة فى الخلية وطبيعة صبغة التمثيل الضوئى وطبيعة وترتيب الأسواط على سطح الخلايا المتحركة . ويمكن تقسيم الطحالب بناء على هذه الصفات الى ست أقسام رئيسية كما هى موضحة فى الجدول (٥ـ١) .

الشكل الظاهرى للطحالب Moroholoqy of Algae

يختلف التركيب الخضرى Vegetative Structure للطحالب اختلافا كبيرا . وأبسط الطحالب هى الطحالب وحيدة الخلية التى تنقسم بالانقسام الثنائى البسيط Binary fission ، وحتى بين هذه الطحالب وحيدة الخلية توجد اختلافات كبيرة فى الشكل والحجم ، ففى حالات عديدة لا تنفصل الخليتين الأختين الناتجتين على الانقسام مباشرة ، بل تظلان ملتصقتين ، وتستمر عملية الانقسام لتكوين كتلة من الخلايا الملتصقة تسمى Coenobium ، ولكن اذا انفصلت الخلايا بعد الانقسام دون الابتعاد عن بعضها ، حيث تظل متماسكة بمواد جيلاتينية Mucilage فتسمى فى هذه الحالة Tetrasporal . كما تتكون أحيانا تجمعات من الخلايا المتحركة فى صورة مستعمرات تتعاون فيما بينها (ولو بدرجة محدودة) شبه الكائن متعدد الخلايا .
كما أن بعض الطحالب تكون خيوطا Filamentous مقسمة بجدر عرضية Septate او غير مقسمة Nonseptate كما قد تكون هذه الخيوط متفرعة Branched أو غير متفرعة Unbranched.

جدول ٥-١ المجموعات الرئيسية للطحالب وصفاتها

اسم المجموعة	الصبغات: كلوروفيل	الصبغات: صبغات أخرى خاصة	تركيب الجدار الخلوى	طبيعة مواد التخزين	عدد ونوع الأسواط	التركيب
١- الطحالب الخضراء D.chlorophyta	أ + ب	—	سليلوز	نشا	بصفة عامة سوطين متشابهين تماما بكل خلية	وحيدة الخلية - متعددة الأنوية - خيطى يشبه الهيفات وبعضها متعدد الخلايا .
٢- الطحالب اليوجلينية D.Euglenophyta	أ + ب	كاروتينات خاصة وزانثوفيل	لا يوجد	باراميليوم أو دهن	سوط أو سوطين أو ثلاثة أسواط للخلية الواحدة	كلها وحيدة الخلية .
٣- الطحالب النارية Dinoflagellates D.Pyrrophyta	أ + جـ	كاروتينات خاصة	سليلوز	نشا أو زيت	سوطين غير متماثلين فى الطول أو التركيب	غالبا وحيدة الخلية . القليل منها خيطى .
٤- الطحالب الذهبية Chrysophytes والدياتومات Diatoms D. Chrysophyta	أ ± جـ	كاروتينات خاصة	الجدار مكون من نصفين يغطى أحدهما الآخر ، وغالبا يحتوى على السليكا . بعضها ليس له جدار .	ليوكوسين وزيت	سوطين فى أوضاع مختلفة .	وحيدة الخلية أو متعددة الأنوية أو خيطية الشكل .
٥- الطحالب البنية D. Phaeophyta	أ + جـ	كاروتينات خاصة	سليلوز وألجين	لامينارين ودهن	سوطين غير متماثلين فى الطول . .	عديدة الخلايا تشبه النباتات . .
٦- الطحالب الحمراء D. Rhodophyta	أ	فايكوبلينات Phycobilins	سليلوز	نشا	لا توجد أسواط	وحيدة الخلية أو عديدة الخلايا تشبه النبات . . . .

الحركة Motility

تتحرك بعض الطحالب بواسطة الأسواط Flagella وتسمى السوطيات Flagellates أو الطحالب السوطية . أما الأهداب Cilia فهى غير معروفة فى الطحالب . والطحالب السوطية البسيطة مثل اليوجلينا لها سوط واحد طرفى . أما الطحالب السوطية التابعة لقسم الطحالب الخضراء Chlorophyta فتحتوى على سوطين أو أربعة أسواط متساوية الطول وتخرج كلها من أحد أطراف الخلية أما قسم الطحالب المعروفة باسم السوطيات Dinoflagellates فهى مجموعة من الطحالب تحتوى على سوطين غير متساويين فى الطول وينشآن من نقط مختلفة من سطح الخلية . ويتكون السوط من ليفتين مركزيتين طوليتين محاطتين بتسعة ليفات مزدوجة مرتبة على هيئة حلقة وتحاط الليفات كلها بغلاف سيتوبلازمى متصل بالغشاء الخلوى وتتحد الليفات الاحدى عشر كلها بالحبيبة القاعدية التى ينشأ منها السوط . وفى حالات عديدة تكون الطحالب غير متحركة فى حالتها الخضرية ولكنها تكون جاميطات متحركة Motile gametes . وبالرغم من أن الدياتومات Diatoms خالية من الأسواط ، الا أن العديد منها متحرك بطريقة مازالت تحت الدراسة حتى الآن . لكن يبدو وأن الدياتومات تفرز مواد لزجة من ثقوب خاصة تسمح للدياتومات بالحركة الزاحفة .

الجدار الخلوى Cell wall

يختلف التركيب الكيميائى للجدار الخلوى فى الطحالب المختلفة اختلافا كبيرا . ففى عدد كبير من الطحالب يتكون الجدار الخلوى أساسا من السيليلوز ولكنه كثيرا ما يعدل بوجود البكتين Pectin (عديد حامض الجلكتورونيك) والزيلانات Xylans والمانانات Mannans وحامض الالجينيك Alginic acid وحامض الفيوسينيك Fucinic acid وغيرها ، وفى بعض الطحالب يتم تقوية الجدار الخلوى بواسطة كربونات .

الكالسيوم ، وتسمى الطحالب فى هذه الحالة Calcareous or Coralline وأحيانا يوجد الشيتين Chitin فى جدار بعض الطحالب.

أما طحالب الدياتومات فتحتوى فى جدرها الخلوية على السليكا Silica بالاضافة الى عديدات التسكر Polysaccharide والبروتين Protein وحتى بعد موت الدياتوم وتحلله تبقى السليكا مؤكدة انها هى المادة التى تكسب الجدار الخلوى للدياتومات صلابته . ووجود السليكا فى الدياتومات جعلت من هذا النوع من الطحالب أفضل الحفريات Fossils اذ تظل الجدر الخلوية للدياتومات لفترات زمنية طويلة دون أن تتغير .

تغذية الطحالب:

ان القدرة على التمثيل الضوئى Photosynthesis جعلت الكثير من الطحالب ذات احتياجات غذائية بسيطة خاصة ، ففى وجود الضوء تستطيع كثير من الطحالب النمو فى بيئة من أملاح غير عضوية فقط . ولا ينطبق ذلك على جميع الطحالب بأى حال فالكثير من الطحالب لها احتياجات غذائية خاصة . ويعتبر احتياج الطحالب لفيتامين ب ١٢ Vitamin B_{12} صفة شائعة بين الطحالب . ومصدر هذا الفيتامين فى الطبيعة قد يكون من البكتيريا التى تعيش مع الطحالب فى نفس البيئة .

ولا تعنى القدرة على التمثيل الضوئى فى الطحالب عدم استخدام المركبات العضوية كمصدر أساسى للكربون والطاقة ، فالكثير من الطحالب ذات قدرات مختلفة فى التمثيل الغذائى والضوئى Mixed type of metabolism . وعلى سبيل المثال الطحلب الأخضر Chlamydobotrys لا يستطيع استعمال CO_2 كمصدر وحيد للكربون رغم قدرته على التمثيل الضوئى . لذلك فهذا الطحلب يعتمد فى نموه على وجود املاح عضوية مثل الأسيتات Acetate كمصدر للكربون ، وذلك نظرا لعدم قدرة هذا الطحلب اختزال CO_2 الى مركبات خلوية عضوية رغم قدرته على

التمثيل الضوئى ·

كما أن عددا من الطحالب التى تنمو فى الضوء مستعملة CO_2 كمصدر للكربون تستطيع أن تنمو فى الظلام مستعملة عددا من المركبات العضوية ·· لذلك فهذه الطحالب تستطيع التحول من التمثيل الضوئى الى الاعتماد على مركبات عضوية فى تغذيتها اعتمادا على وجود الضوء أو غيابه·

والطحالب ذات الجدار الخلوى الكامل تعتمد على امتصاص المواد العضوية من البيئة فى الظلام· ولكن يوجد عدد من الطحالب وحيدة الخلية Unicellular ليس لها جدار خلوى كليا أو جزئيا · ومثل هذه الطحالب لها القدرة على ابتلاع Phagocytize بكتيريا أو كائنات دقيقة أخرى ، ولذلك فهى من النوع المبتلع Phagotrophic مثلها فى ذلك مثل بعض انواع البروتوزوا Protozoa · لذلك فمن الخطأ اعتبار الطحالب كائنات ممثلة للضوء فقط· بل على العكس من ذلك فعدد كبير من الطحالب وحيدة الخلية تعتمد فى تغذيتها على طرق مماثلة للكائنات التابعة للقسمين الآخرين (الفطريات والبروتوزوا) من البروتستا Protists .

وفيما يلى نعرض أهم مجموعات الطحالب الست المذكورة فى الجدول (٥-١) ·

أولاً : الطحالب الخضراء Chlorophyta

تعيش الطحالب الخضراء Green Algae فى ظروف مختلفة ، فهى توجد فى المياه العذبة والمالحة وفى التربة وعلى الصخور والخشب الرطب وقلف الأشجار · وتتميز معظم الأنواع التى تعيش فى المياه العذبه بأنها توجد مغمورة فى الماء بينما تتميز الأنواع التى تعيش فى المياه المالحه بقربها من الشواطىء ، وتكون عاده مثبتة بالصخور تعيش معظم الطحالب الخضراء معيشة حرة Free Living والقليل

يعيش معيشة متطفلة ... ونظرا لاحتواء هذه الطحالب على كلوروفيل أ ، ب في تركيبات مماثلة لتلك التركيبات Grana الموجودة في النباتات الراقية ، فهناك اعتقاد بأن هذه الطحالب هي الأصل الذى نشأت منه النباتات الراقية . ويوجد الكلوروفيل داخل بلاستيدات خضراء .

تختلف الطحالب الخضراء عن بعضها البعض اختلافا كبيرا في الشكل والحجم . كما أن بعضها وحيد الخلية Unicellular مثل طحلب كلاميدوموناس Chlamydomonas والبعض يكون مستعمرات من خلايا متشابهة وتقوم كل خلية مستقلة عن الخلايا الأخرى بجميع وظائف الحياة المختلفة كما في طحلب باندورينا Pandorina وقد تتخصص بعض خلايا المستعمرة وتفقد الخلايا فرديتها وتتناسق أنشطة الخلايا في المستعمرة لدرجة أن المستعمرة كلها تتحرك في المياه نتيجة تحريك أسواط كل الخلايا بصورة متناسقة كما في طحلب الفولفوكس Volvox . كما تكون بعض الطحالب الخضراء ذات تركيب خيطي مقسم مثل طحلب سبيروجيرا Spirogyra ومعظم الطحالب الخضراء ذات جدر خلوية تتكون أساسا من السيليلوز ، وكثيرا ما يوجد نسبة من البكتين في الجدر الخلوية للطحالب ذات الجدر الخلوية . قليل من الطحالب الخضراء ليس له جدر خلوية ، أما البروتوبلاست فهو مماثل للبروتوبلاست في البروتستا فيوجد الغشاء الخلوى مغلفا للبروتوبلازم بمكوناته المختلفة . وتركيب الغشاء الخلوى مماثل لما سبق الاشارة اليه في وحدة الغشاء في الفصل الرابع .. وأهم مكونات البروتوبلازم وهي النواة وهي ذات غشاء نووى واضح بها نوية واحدة أو اكثر وبها شبكة كروماتينية ـ كما يحتوى البروتوبلازم بلاستيدة واحدة كبيرة أو عدة بلاستيدات صغيرة ـ وقد تكون البلاستيدات الخضراء على درجة من الكبر تمكن من رؤيتها بالعين المجردة . وكل بلاستيدة لها غشاء خارجي ذو ثنيات داخلية تسمى ثنيات التمثيل الضوئي Photosynthetic lamella or Thylakoids (شكل ٤ ـ ٣) ويوجد الكلوروفيل في هذه الثنيات . وهذه الثنيات تترتب في تركيبات خاصة تسمى بذيرات Grana . ومثل تلك التركيبات لا توجد في أنواع الطحالب الأخرى ولكنها موجودة في النباتات الراقية وغشاء البلاستيدة بما فيه من ثنيات التمثيل الضوئي مركب بطريقة تشبه تركيب الغشاء

الخلوى (والذى سيلى ذكرة فى الفصل التاسع عند شرح غشاء الأحياء ذات النواه البدائية) من طبقة فوسفوليبيدات يكون فيها الجزء المحب للماء متجها الى سطحى الغشاء وطبقة الدهن (غير المحبة للماء Hydrophobic) متجهة لداخل الغشاء ويكون البروتين متعاونا مع الغشاء فى الطبقة غير المحبة للماء . ويعتقد بأن الكلوروفيل (مادة غير محبة للماء Hydrophobic) يكون مرتبطا مع البروتين مع طبقة الدهن (غير المحبة للماء) .

ويحتوى البروتوبلازم أيضا على الميتوكوندريا وهى أجهزة بناء الطاقة . وغشاء الميتوكوندريا - أيضا - يشبه الغشاء الخلوى ، ويتم فى ثنياته Cristae عمليات بناء الطاقة وكلا من البلاستيدات الخضراء والميتوكوندريا على درجة ما من الاستقلالية فهما يحتويان على الريبوسومات الخاصة بهما والحمض النووى دى أوكس ريبونيكليك (د ن أ DNA) الخاص بهما أيضا .

وتختزن الطحالب الخضراء الغذاء فى صورة نشا . ويتكون النشا فى البلاستيدات الخضراء على أجسام خاصة تسمى البيروينويدات Pyrenoids .

يوجد بالبروتوبلاست عادة فجوات عصارية تشبه الموجودة فى خلايا النباتات الراقية ، وهى تبدأ صغيرة وعديدة ثم تتجمع وتكبر لتكون فجوة واحدة كبيرة عادة ، كما يحتوى السيتوبلازم على ريبوسومات من نوع (80S) التى تستخدم لبناء البروتينات المختلفة فى الخلية .

يوجد فى بعض الطحالب المتحركة من الناحية الأمامية قرب قواعد الأسواط بقعة عنة Stigma حساسة للضوء . وتوجه حركة الأسواط نحو مركز الضوء ، ويختلف تركيبها فى الطحالب المختلفة .

كما يوجد فى بعض الطحالب الخضراء المتحركة فراغات منقبضة Contractile vacules ويوجد عادة فراغان منقبضان بكل خلية يقع كل منهما تحت قاعدة سوط . ينقبض الفراغان بالتبادل ويحدث الانقباض

فجائيا ولكن يحدث التمدد تدريجيا • ويعتقد أن وظيفة الفراغات المنقبضة هو الاخراج حيث تجمع نواتج التحول الغذائى للخلية وتطردها للخارج •

وقد تكون الطحالب الخضراء متحركة أو غير متحركة ، وتتم الحركة فى خلايا الطحالب الخضراء المتحركه بواسطة سوطين متساويين لكل خلية ، وفى بعض الطحالب مثل طحلب كلاميدوموناس وطحلب فولفوكس تتصل الأسواط بجهاز حركى خاص Neuromotor apparatus موجودة تحت كل سوط يتكون من حبيبة تعرف بالبليفاروبلاست Blepharoplast .

التكاثر اللاجنسى Asexual reproduction

تتكاثر الطحالب الخضراء لا جنسيا اما بالنمو الخضرى أو بالجراثيم اللاجنسية ويتم النمو الخضرى بانقسام الخلايا الفردية انقساما مباشرا ثم انفصالها أو بانفصال أجزاء من الطحلب ثم نمو كل منها على حدة • وقد تنفصل أجزاء الطحلب طبيعيا أو نتيجة لتيارات الماء القوية•

أما التكاثر بالجراثيم اللاجنسية فيتم بتكوين إما جراثيم سوطية متحركة Zoospores كما فى طحلب كلاميدوموناس أو جراثيم غير متحركة Aplanospores كما فى طحلب كلوريللا Chlorella •ويعتبر تكوين الجراثيم المتحركة صفة بدائية • وتتكون الجراثيم اللاجنسية داخل خلايا خضرية عادية • وأحيانا داخل خلايا متخصصة تعرف بأكياس الجراثيم السوطية Zoosporagium - وتتميز الجراثيم غير المتحركة بوجود جدار مميز لها عن جدار الخلية الأم • وقد يكون جدار الجرثومة سميكا. فتصبح فى هذه الحالة ساكنة •

كما أن بعض الخلايا الخضرية تتحول الى تركيبات مشابهة للجراثيم فيزداد سمك جدرها ويزداد محتواها الغذائى وتعرف باللاكينتيس Akinetes وتميز اللاكينتيس بأن جدارها غير منفصل عن جدار الخلية الأم ، مختلفة بذلك عن الجراثيم غير المتحركة •

وقد تنبت الأكينتيس انباتا مباشرا فتعطى طحالب جديدة وقد ينقسم البروتوبلاست فيها قبل الانبات ليعطى جراثيما متحركة ٠

التكاثر الجنسى : Sexual reproduction

يتم التكاثر الجنسى فى الطحالب الخضراء الأكثر بدائية بواسطة جاميطات متحركة متشابهة ٠ ويسمى التزاوج بمثل تلك الجراثيم التى لا يمكن التمييز بينها باسم Isogamy ٠ أما التكاثر الجنسى فى الأنواع الأرقى من الطحالب الخضراء فيتم التزاوج بين جاميطات متحركة ذات احجام مختلفة ٠ والجاميطات الأصغر هى الجاميطات المذكرة ، أما الجاميطات الأكبر فهى المؤنثة ٠ ويسمى التزاوج فى هذه الحالة بالتزاوج غير المتماثل Anisogamy ٠ واذا حدث التزاوج بين جاميطة مذكرة متحركة وجاميطة مؤنثة غير متحركة (وتعرف فى هذه الحالة بالبيضة) باسم Oogamy وقد يتم التزاوج بين جاميطات تنتج من طحلب واحد ، ويعرف هذا النوع من الكائنات بأنه متماثل الثالوس Homothalic ٠ وقد لا يحدث التزاوج الا بين جاميطيتين ناتجتين من طحلبين مختلفين ، ويعرف هذا النوع من الطحالب بأنه متباين الثالوس Heterothallic ٠ ويرجع تباين الثالوس الى عدم التوافق الوراثى بين جاميطات نفس الطحلب ٠ ويتم الاخصاب باندماج الأنوية الناتجة من كل من الجاميطتين المتحدتين فى ازواج .

والزيجوت الناتج عن جاميطتين متحركتين يكون متحركا لفترة ما ثم يفقد أسواطه ويفرز جدارا ٠ أما فى التزاوج البيضى حيث الجاميطة المؤنثة غير متحركة فان الزيجوت الناتج لا يتحرك مطلقا ٠ وقد يكون الزيجوت الناتج رقيق الجدار فينبت بعد فترة قصيرة من الاخصاب ٠ وقد يكون سميك الجدار فيسكن لفترة قبل الانبات ٠ يقوم الزيجوت الناضج بعملية التمثيل الضوئى فيسبب تجميع كثير من الغذاء الذى يخزن به ٠ ويخزن الغذاء فى الزيجوت الصغير السن فى صورة نشا ٠٠٠ ثم يتحول الغذاء المخزن الى زيت ٠ وعادة مايكون نضج الزيجوت مصحوبا بتكوين

صبغات كاروتينية بكميات كافية تجعل لون البروتوبلاست أحمر أو برتقالى محمر . وفى أول مراحل انبات الزيجوت يحدث انقسام اختزالى .

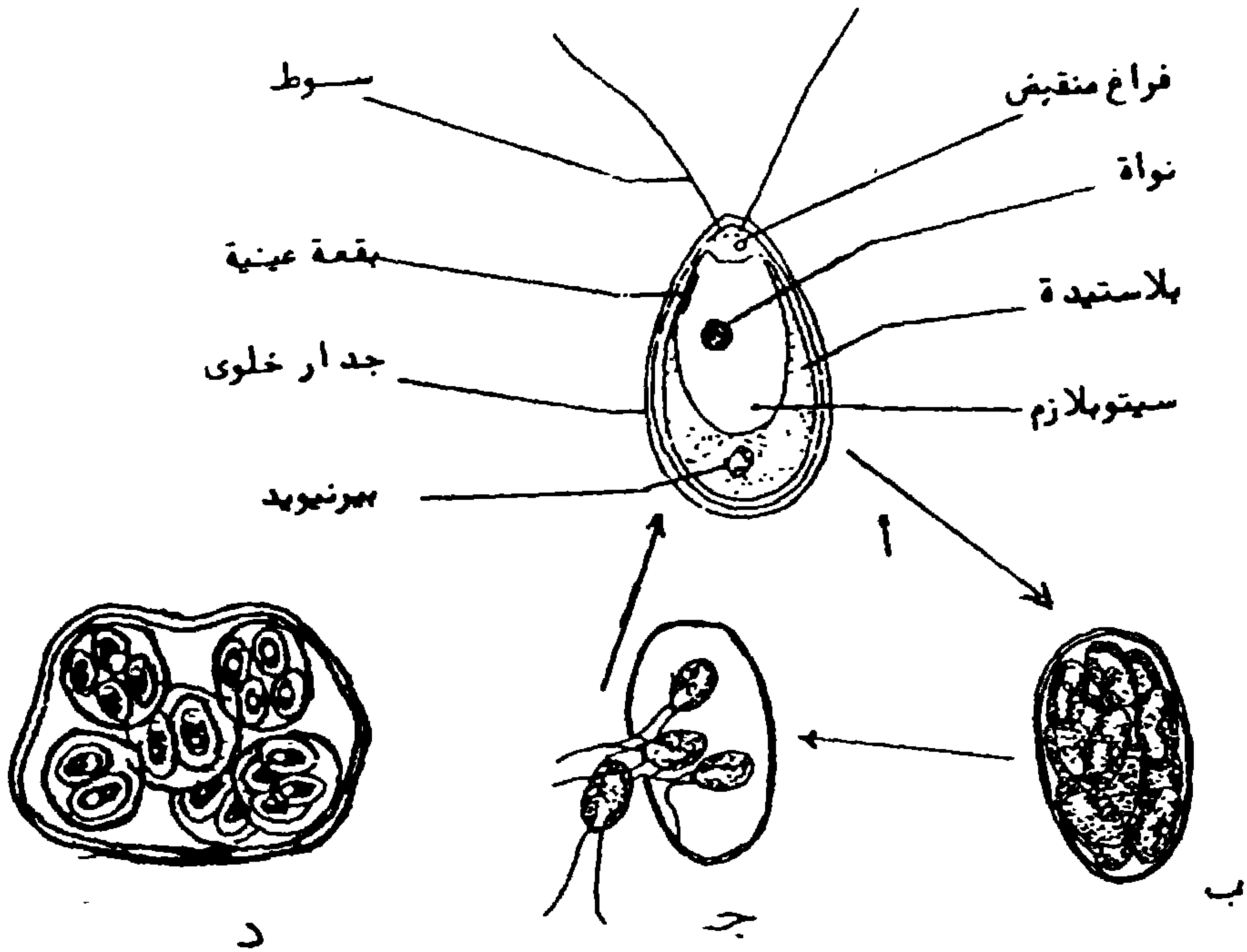
ومن أجناس الطحالب الخضراء كلاميدوموناس Chlamydomonas ـ باندورينا Pandorina ـ فولفوكس Volvox سبيروجيرا Springyra ـ ألفا Ulva ـ اسيتوبيولاريا Acetabularia .

طحلب كلاميدوموناس Chlamydomonas

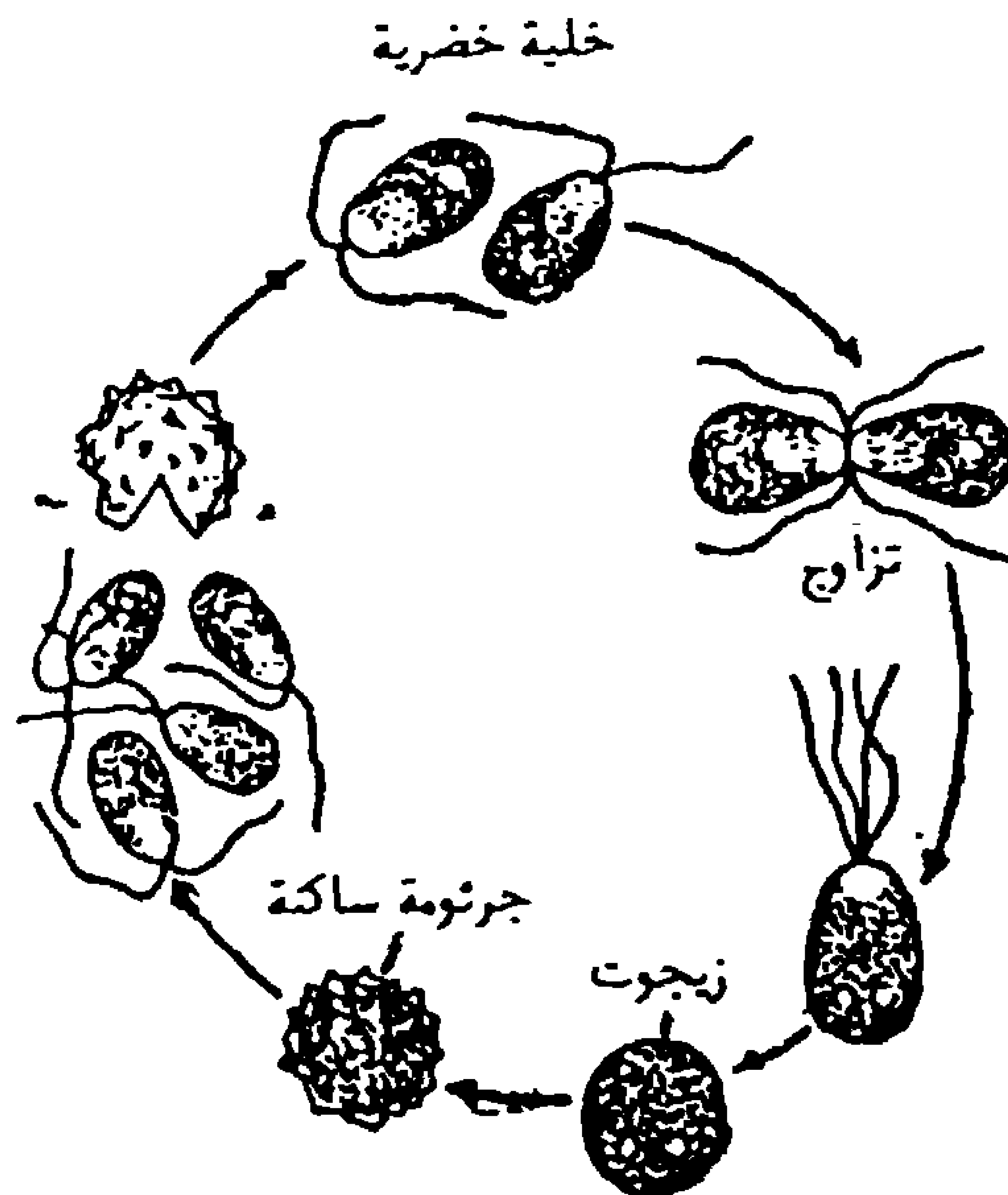
يعيش طحلب كلاميدوموناس فى المياه العذبة والتربة الرطبة ، ويكثر فى المياه الغنية بالأمونيا ، والطحلب وحيد الخلية Unicellular . ويختلف شكل الخلية من كروى الى بيضاوى الى كمثرى الشكل ـ يحتوى جدار الخلية على السليلوز والبكتين ـ كما تحتوى خلية الطحلب على بلاستيدة واحدة ذات أشكال امانجمية أو كأسية ، وقد تحتوى البلاستيدة على بيرينويد واحد أو أكثر ، ويوجد بالسيتوبلازم فراغان منقبضان عند قاعدتى كل سوط . وتوجد بقعة عينية Eye spot فى موضع ثابت يتوقف على النوع . وتتركب البقعة العينية من عدسة شفافة محدبة الوجهين . ويوجد بأحد وجهيها صفيحة مقعرة ملونة . وتحتوى كل خلية على نواة حقيقية . وتوجد النواة فى تجويف البلاستيدة فى حالة الأنواع ذات البلاستيدة الكأسية الشكل . شكل (٥ ـ ١) .

يبدأ التكاثر اللاجنسى بضعف حركة الطحلب ثم فقدانه لأهدابه ثم ينقسم البروتوبلاست الى قسمين فأربعة اقسام . وقد يستمر الانقسام ليعطى ثمان أو ستة عشرة وحدة يتكون لكل منها جدار خاص وأسواط وجهاز حركى ، وتصبح جراثيما سوطية تتحرر بانفجار أو ذوبان جدران الخلية الأم . والجراثيم السوطية تشبه خلايا الطحلب العادية الا انها أصغر حجما .

يحدث ـ أحيانا فى ظروف غير ملائمة ـ أن لا تتكون أهداب للوحدات الناتجة عن الانقسام وتتغلظ جدرها كما يتغلظ جدار الخلية



شكل ٥ ـ ١ : طحلب الكلاميدوموناس
أ ـ قطاع طولى فى خلية الطحلب
ب ، ج ـ التكاثر اللاجنسى
د ـ الطور البالميللى



شكل ٥ ـ ٢ : خطوات التكاثر الجنسى لطحلب الباندورينا

الأم. ثم ينقسم بروتوبلاست كل وحدة على حدة عدة مرات. ويعرف هـذا الطور من الانقسام بالطور البالميللى Palmella stage. وعنـد تحسن الظروف تتكون أسواط للوحدات الصغيرة متحولة الى جراثيـم سوطية تنطلق وتنمو مكونة طحالب جديدة.

يحدث التكاثر الجنسى فى بعض الأنواع بين جاميطات متحركة متماثلة Isogamy أو بين جاميطات متحركة غير متماثلة فى الحجم Anisogamy. بعض أنواع الكلاميدومونـاس متماثل الثالوس Homothallic وبعضها متبايـن الثالوس Hetrothallic.

طحلب الباندورينا

يشبه طحلب الباندورينا طحلب كلاميدوموناس من حيث التركيـب الا ان الجزء الأمامى هو الجزء العريض والذى يوجد به السوطـان والبقعة العينية والفراغان المنقبضان.

تتوقف المستعمرة عن الحركة قبيل التكاثر اللاجنسى ثم تغطـس فى قاع البركة وينتفخ غلافها الجيلاتينى ويصبح لينا. ثم تنقسم كل خليـة من خلايا المستعمرة الأم لتكون مستعمرة بنوية صغيرة تحتوى عادة علـى ١٦ خلية. ثم تتحرر المستعمرات البنوية من المستعمرة الأم ثم تكبـر فى الحجم.

يحدث التكاثر الجنسى بين جاميطات مختلفة الحجم وتنتـج الزيجوت الذى يستريح لفترة، ثم ينقسم اختزاليا ليعطى أربعـة بروتوبلاستات ... تنضج واحدة منها فقط لتكون جرثومة سوطية تسبـح لفترة ثم تفرز جدارا جيلاتينيا وتستقر وتنقسم لتكون مستعمرة جديدة. (شكل ٥_٢).

طحلب الفولفوكس Volvox

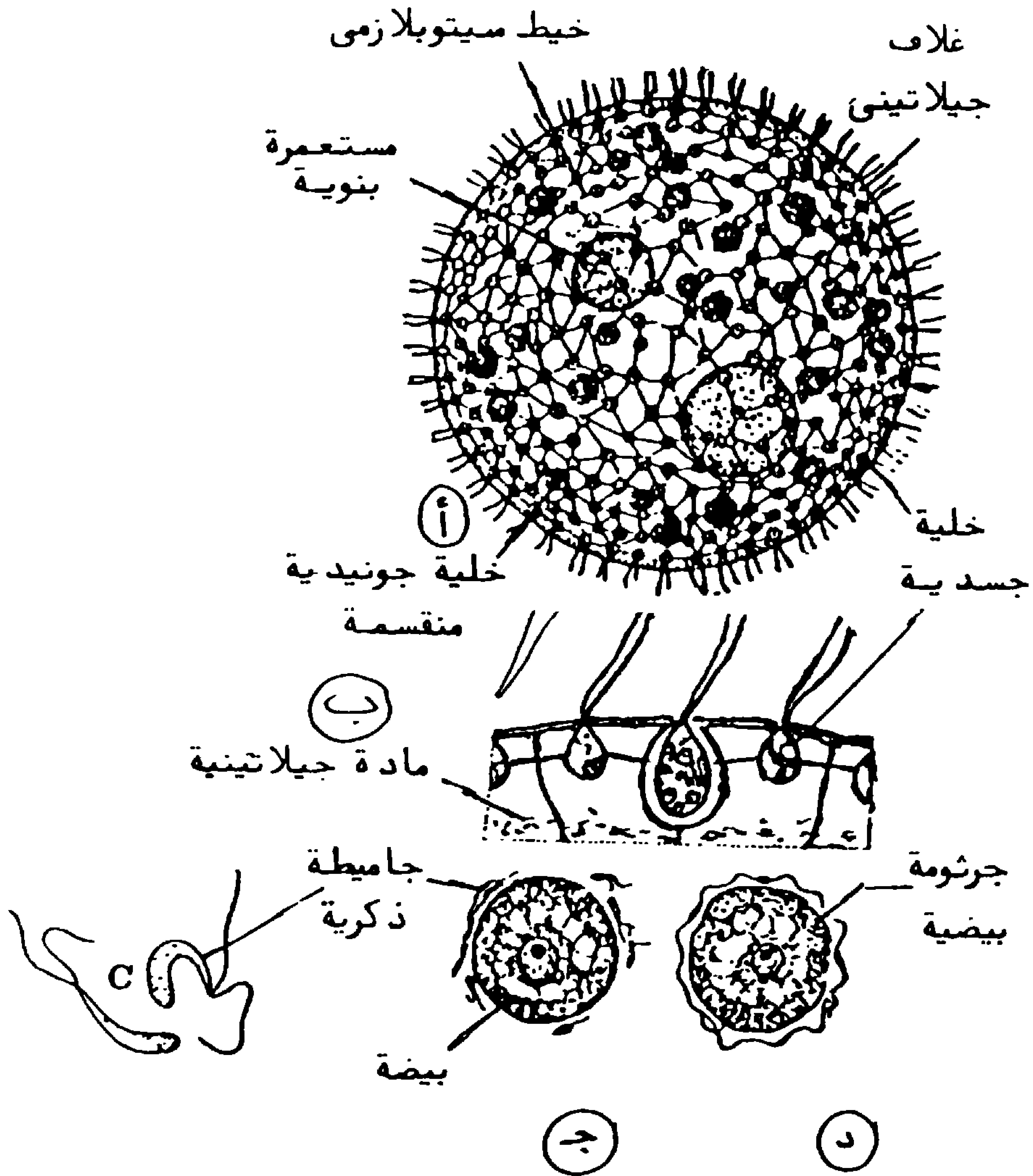
يعيش طحلب فولفوكس فى المياه العذبة، ويكثر _ عادة _ فى

الربيع ويختفي في الصيف ، ويتواجد بقية العام في صورة جرثومية بيضية ٠

وطحلب الفولفوكس أكثر تعقيدا من طحلب الكلاميد ومونـــــاس حيث تتعاون خلايا طحلب الفولفوكس لتكون مستعمرات ٠ وتصل درجـــة التعاون بين الخلايا الى درجة تفقد كل خلية معها فرديتها ٠ ويتــراوح عدد الخلايا في المستعمرة الواحدة بين ٥٠٠ في بعض الأصناف الـــى ٥٠,٠٠٠ في أصناف أخرى ٠ وكل خلية تحاط بغلاف جيلاتيني ، ولذلـك فرغم انفصال الخلايا عن بعضها الا أنها تظل ملتصقة عن طريق المـادة الجيلاتينية المحيطة بالخلايا (شكل ٥ـ٣) وتتناسق أنشطة الخلايـا في المستعمرة لدرجة أن المستعمرة كلها تتحرك في المياة كما لو كانـــت كائن واحد نتيجة تحريك أسواط كل الخلايا بصورة متناسقة ٠ وتتكـــون المستعمرات الصغيرة من خلايا متماثلة ، ولكن عند كبر المستعمرة تظهـر بعض الخلايا المتخصصة التي تقوم بوظائف تكاثرية ٠ معظم خلايــــا المستعمرة هي الخلايا الخضرية الجسدية Somatic cells وهـــي المسئولة عن التغذية والحركة للمستعمرة ٠ أما الخلايا الأخرى المسئولـة عن التكاثر فهي أكبر حجما من الخلايا الخضرية الجسدية ٠

ويتم انتاج مستعمرات فولفوكس Volvox جديدة اما جنسيــا أولا جنسيا ولكن معظم خلايا الفولفوكس غير قادرة على تكوين مستعمـرات ، ولكن عندما تكبر المستعمرة (وخاصة في الربيع) فان عددا من خلايـا المستعمرة يتحول الى خلايا تكاثر لا جنسي تسمى الجونيديا Gonidia ومفردها الجونيديم Gonidium وكل من هذه الجونيديا تصل فـــي الحجم الى عشرة أضعاف (أو أكثر) من حجم خلايا الفولفوكس العاديــة ، وكل من هذه الجونيديا تستطيع انتاج مستعمرة Colony ويوجـــد كل جونيديم في كيس جيلاتيني ، تنقسم الجونيديم عدد من المرات فـــي خطوات منتظمة مكونة مجموعة من الخلايا تعرف باسم المستعمرة الأوليـــة Autocolony .

وعندما تصل المستعمرة الأولية درجة البلوغ Maturity فانها تنفصل من المستعمرة الأم وتبدأ في الاعتماد على نفسها (ولا تستطيع كل خلية من خلايا المستعمرة) تكوين مستعمرة جديدة بنفسها ٠ لذلـــك



شكل ٥ـ٣ : طحلب الفولفوكس (مستعمرة)

أـ مستعمرة الفولفوكس. ب ـ خلايا خضرية جسدية .

جـ ـ بيضة وحولها جاميطات ذكرية .

د ـ جرثومة بيضية .

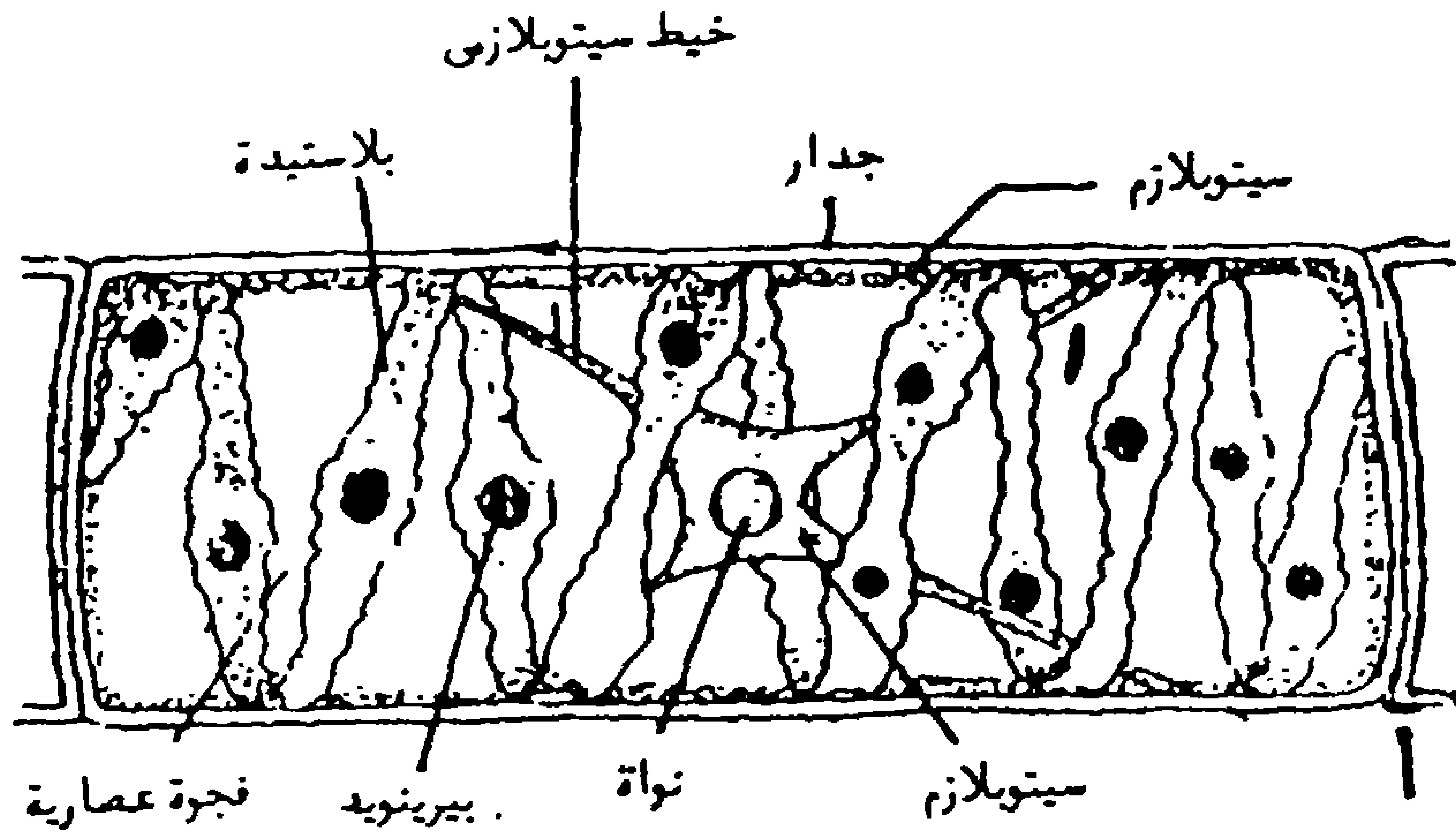
فان خلايا الفولفوكس Volvox تشبه لحد كبير خلايا الكائنات المتعددة الخلايا أكثر من كونها أحياء وحيدة الخلية ..

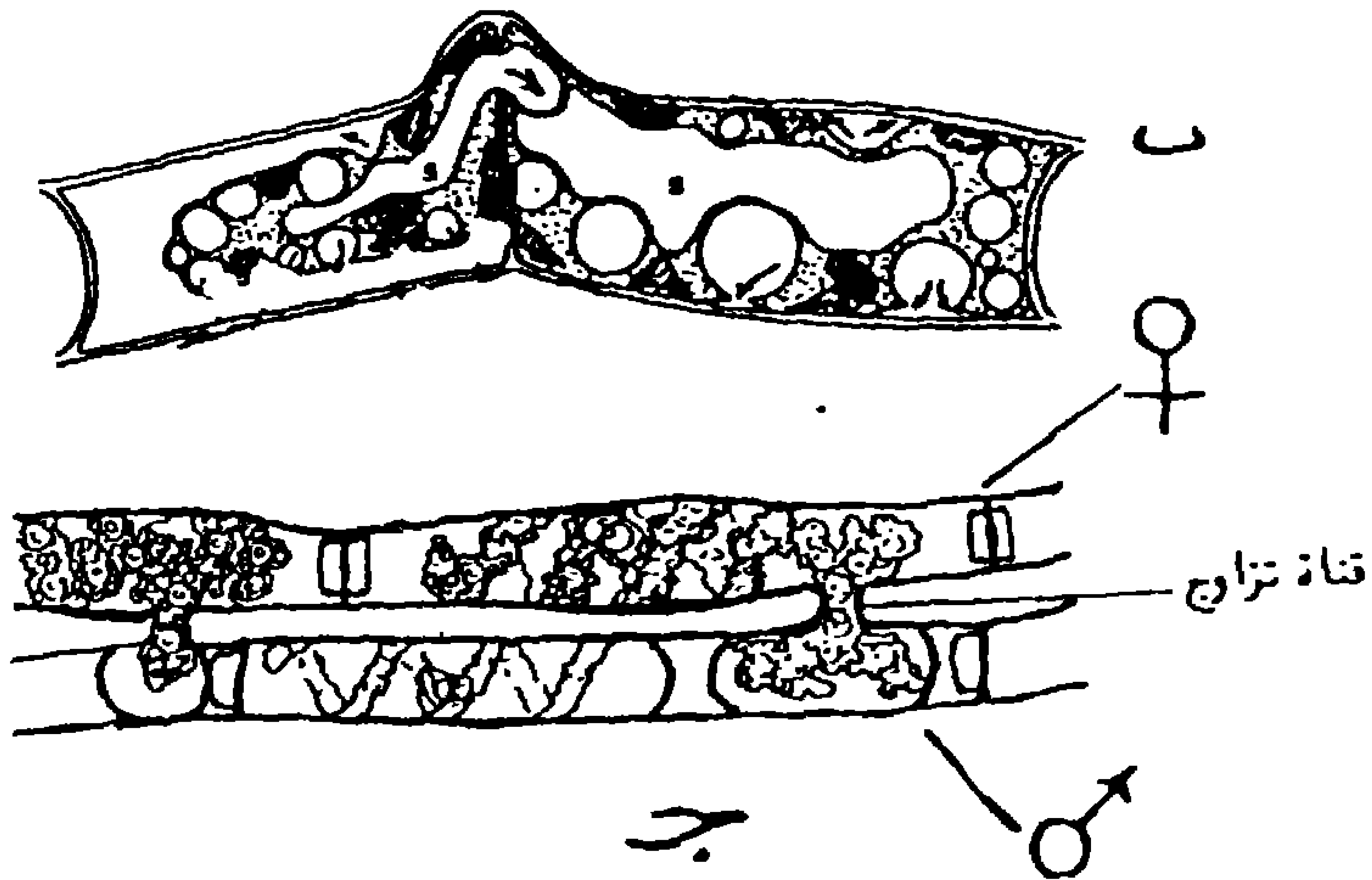
أما التكاثر الجنسى فى الفولفوكس Volvox فيحدث فى نهاية فصل الربيع من خلال التزاوج بين خلية البويضة Egg وتسمى أحيانا Oosphere وخلية الحيوان المنوى Sperm وتسمى أحيانا Anthridium حيث يخترق الحيوان المنوى (انجاميطة المذكرة) البويضة (الجاميطة المؤنثة) ويتكون الزيجوت ، وهو مزدوج الكروموسومات Diploid فى هذه الحالة ويكون جدارا سميكا . وعادة ما يحتوى صبغات حمراء ، ولا ينبت الزيجوت مباشرة ، ولكنه عادة يظل كامنا (ويسمى فى هذه الحالة الجرثومة البيضية Oospore) حتى تموت المستعمرة الأم وتتحلل . وتحت الظروف البيئية المناسبة (فى الربيع التالى عادة) تنكسر حالة الكمون ويحدث انقسام اختزالى أولا وتتكون خلايا أحادية الكروموسومات Haploid مزدوجة الأسواط Biflagellate تسمى الجراثيم الحيوانية Zoospore وهذه الجراثيم الأخيرة هى التى تكون المستعمرات الجديدة .

أما البويضات والحيوانات المنوية فكثيرا ما تنتج من مستعمرات مختلفة . بمعنى أن بعض المستعمرات تنتج بويضات (جاميطات مؤنثة) ، وبعض المستعمرات تنتج حيوانات منوية (جاميطات مذكرة) . وتتكون هذه الأخيرة من خلايا متضخمة تشبه الجونيديم ، أما الجاميطات المؤنثة فهى تتكون من عدد صغير من الخلايا التى تتحول الى بويضات.

٣ـ طحلب سبيروجيرا Spirogyra

يشاهد طحلب سبيروجيرا فى المياه العذبة الراكدة بكثرة ، ويتكون الطحلب من نمو خيطى غير متفرع عبارة عن صف من خلايا أسطوانية الشكل . وقد يكون لها زوائد تعمل على تثبيت الطحلب . يتكون جدار الخلية من سليلوز وبكتين . ويحتوى السيتوبلازم على بلاستيدة واحدة أو بلاستيدتان تلتف حلزونيا بطول الخلية (شكل ٥ـ ٤أ) .



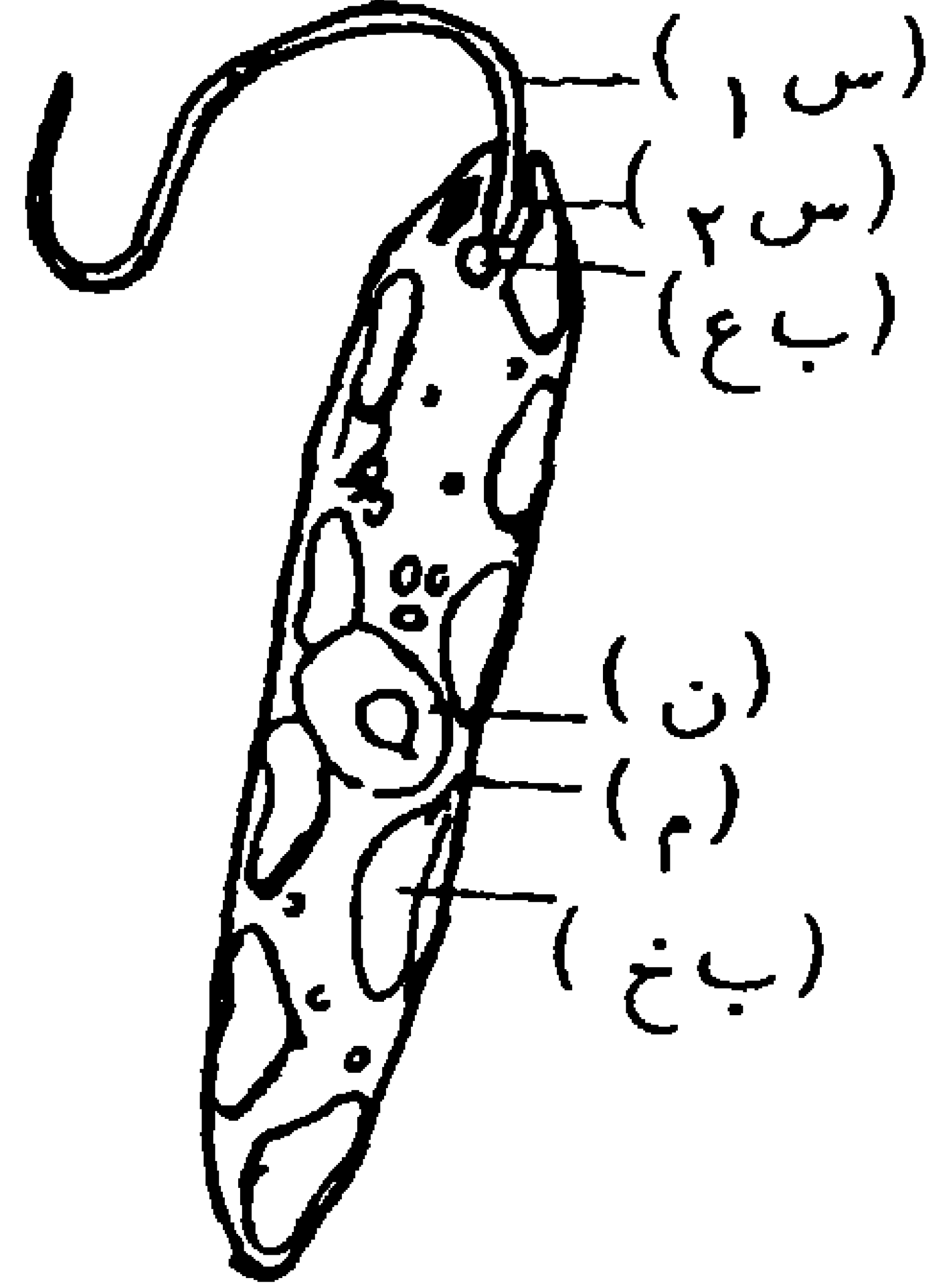


شكل ٥ ـ ٤ : طحلب الاسبيروجيرا
أ ـ خلية خضرية
ب ـ تزاوج جانبى .
جـ ـ تزاوج سلمى .

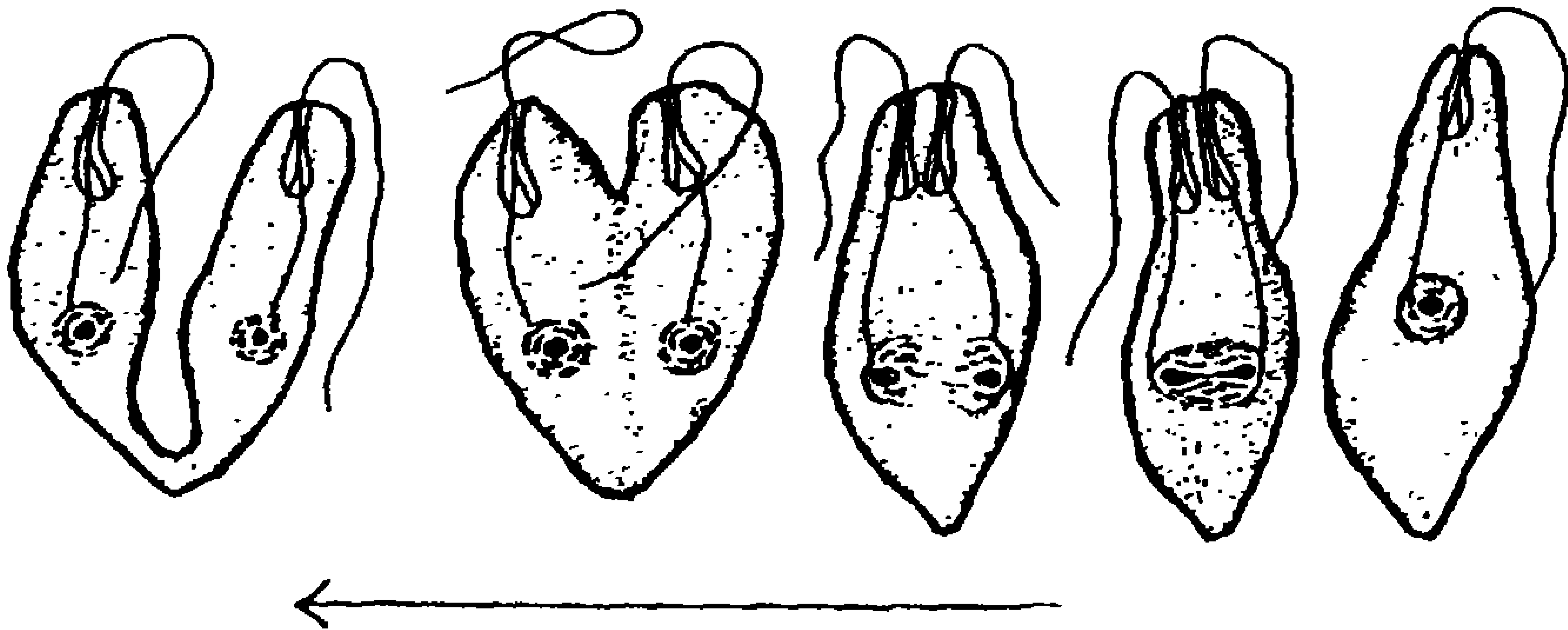
ينمو الطحلب باستطالة الخلايا ثم انقسامها انقساما غير مباشر ويحدث التكاثر الخضري بانفصال الجدار الخلوى بين أى خليتين ثم نمو كل جزء على حدة ويحدث التكاثر الجنسى بين جاميطات أميبية الشكل عديمة الأسواط ، وقد يحدث التزاوج بانتقال بروتوبلاست خلية (جاميطة) الى الخلية المجاورة لها بعد ذوبان الجدار الفاصل بينهما فيسمى هذا التزاوج بالتزاوج الجانبى Lateral conjugation (شكل ٥ـ٤ب) ، وقد يحدث التزاوج بين خليتين مختلفتين حيث يتقارب خيطان من بعضهما . وتظهر نتوءات من كل منهما فى اتجاه الآخر حتى يتلاصق كل نتوءين ويذوب الجدار الفاصل بينهما وتتكون قناة التزاوج . وينتقل خلالها بروتوبلاست من احدى الخليتين (وهى خلايا الطحلب المذكر) الى الخلية الأخرى (وهى خلايا الطحلب المؤنث) ويسمى هذا التزاوج بالتزاوج السلمى Scalariform conjugation (شكل ٥ـ٤جـ) وفى كلا النوعين من التزاوج تتحد النواتان وتتحلل البلاستيدة الخضراء للجاميطة المذكرة والخلايا المحتوية على الزيجوت تحيط نفسها بجدار سميك تسمى الجراثيم الزيجوية . بعد فترة سكون تنمو الجراثيم الزيجوية وتنقسم نواتها انقساما اختزاليا وينشأ عن ذلك أربعة أنوية تتحلل ثلاث منها وتبقى واحدة لتنقسم ويتكون خيط جديد .

ثانيا : الطحالب اليوجيلينية Euglenophyta

تكثر الطحالب اليوجيلينية فى مياه البرك الغنية بالمواد العضوية . كما توجد فى أمعاء بعض الحيوانات . وهى طحالب وحيدة الخلية متحركة ذات ألوان خضراء لاحتوائها على صبغات الكلوروفيل أ ، ب كما تحتوى أيضا على كاروتينات وزانثوفيل . وقد تحدث طفرة تسبب فقد بعض أفراد اليوجيلينا القدرة على تكوين الكلوروفيل ، ومثل هذه الطفرات غير رجعية . وعندما تفقد اليوجيلينا القدرة على بناء الكلوروفيل فانها تكون كائنات وحيدة الخلية عديمة اللون ليس عندها القدرة للتمثيل الضوئى ، وتشبه بذلك قسم السوطيات Flagellates التابع للبروتوزوا. وتمثل مثل هذه الكائنات حلقة اتصال هامة بين الطحالب والبروتوزوا. ورغم أن كثيرا من علماء النبات يضعون هذه الطحالب ضمن المملكة النباتية



شكل ٥ ـ ٥ : طحلب يوجيلينا جراسيليس Englena gracilis
رسم توضيحى لمكونات الخلية النواه (ن) البلاستيدة الخضراء (ب خ)
الميتوكوندريا (م) البقعة العينية (ب ع) السوطين (س ١) (س ٢)
غير متماثلين ٠



شكل ٥ ـ ٦ : خطوات الانقسام الثنائى الطولى فى اليوجيلينا

فان كثيراً من علماء الحيوان يضعون هذه الكائنات ضمن المملكة الحيوانية في قسم السوطيات التابع للبروتوزوا خاصة وأن اليوجيلينا تنقسم انقساما طوليا شبيها بما يحدث في البروتوزوا ، ويوجد عضو متخصص للرؤية يسمى البقعة العينية Eye spot يحتوى على صبغات كاروتينية وزانثوفيل ، وهو يعمل كمستقبل للضوء للتحكم في حركة الخلية فتتحرك الخلية بناء على اتجاه وشدة الضوء . وقد تفقد بعض أنواع اليوجيلينا أيضا القدرة على تكوين هذه الصبغات كطفرات غير رجعية . وفي هذه الحالة لا تتأثر الخلايا بالضوء والغذاء المخزن يكون في صورة دهون ومركب كربوهيدراتي شبيه بالنشا عديم الذوبان في الماء هو الباراميلم Paramylum وتتحرك جميع أفراد الطحالب اليوجيلينية بواسطة أسواط ويمثل هذه المجموعة طحلب اليوجيلينا Euglena .

طحلب اليوجيلينا يكثر وجوده في المياه العذبة وهو طحلب وحيد الخلية مغزلي الشكل ليس له جدار خلوي لذلك فكثيرا ما يتغير شكله .

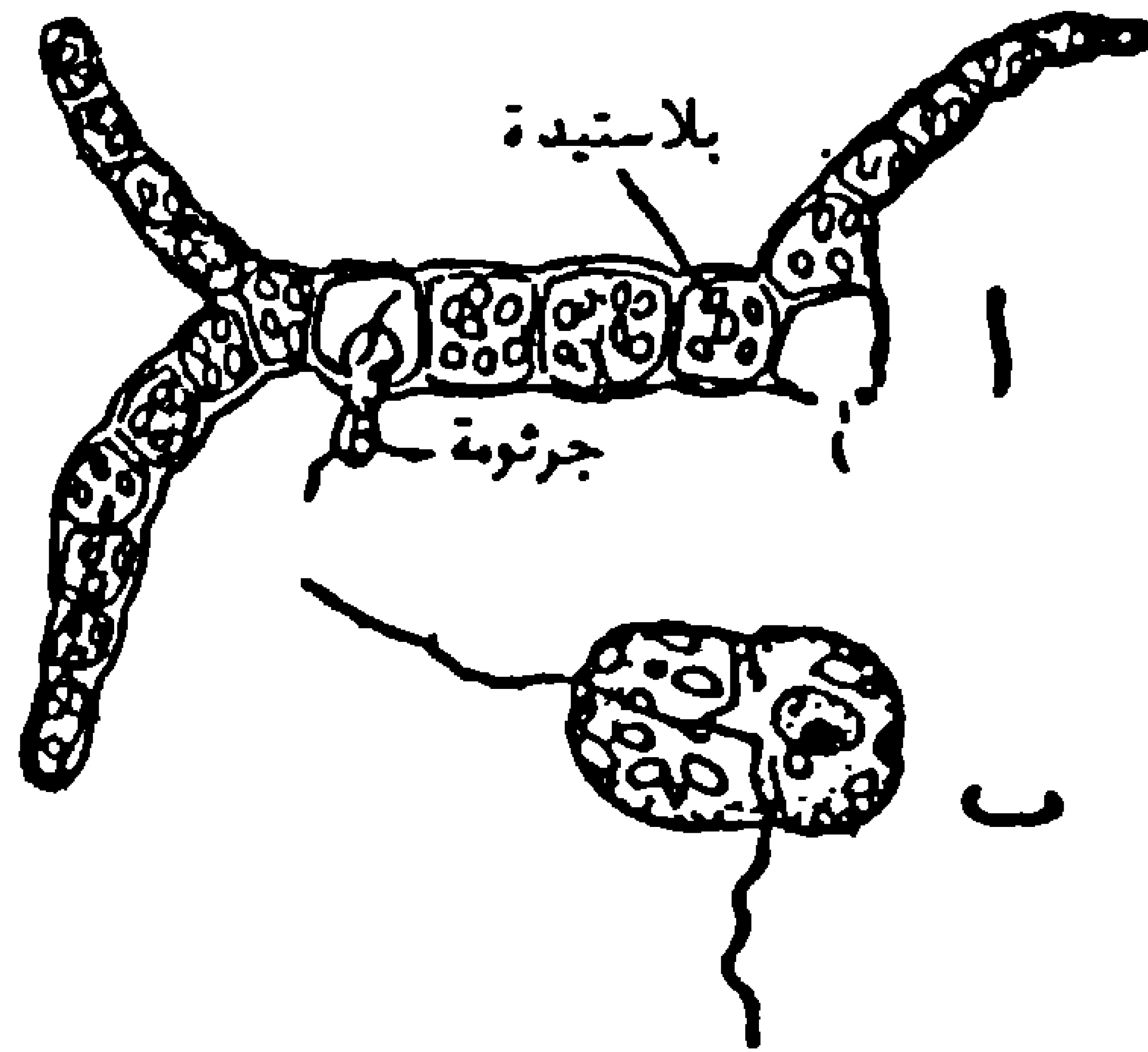
يتكون الجزء الخارجي من السيتوبلازم من جزء بروتوبلازمي أكثر كثافة من باقي السيتوبلازم ، ويعرف بالبريبلاست Periplast يمكن البروتوبلاست من الانقباض والحركة بحرية . وعادة يكون البريبلاست مخططا طوليا أو منقطا . وقد يكون البريبلاست صلب فيعطي للخلية شكل ثابت أو يكون مرنا فيتغير الطحلب أثناء الحركة . والشكل العام (شكل ٥ـ٥) لهذا الطحلب يتراوح بين البيضي والمغزلي ، وقد يحيط بالخلية (دون التصاق) غلاف جيلاتيني يسمى Pellicle مزركش به فتحة أمامية تخرج منها الأسواط ويسمى Lorica يحتوى البروتوبلاست على نواه حقيقية واحدة وعدد من الميتوكوندريا والبلاستيدات الخضراء.

يحدث التكاثر اللاجنسي بانقسام بروتوبلاست الخلايا طوليا Longitudinal fission (شكل ٥ـ٦) انقساما غير مباشر . وعند وجود الغلاف الجيلاتيني Pellicle يحدث الانقسام داخل الغلاف وتحتفظ احدى الخليتين بالغلاف بينما تتحرر الثانية منه وتكون غلافا جديدا لها .

ثالثاً : الطحالب البيرية Pyrrophyta

تعيش الطحالب البيرية فى البحار والمياه العذبة . ومعظمها وحيد الخلية تتحرك الخلية بسوطين غير متماثلين فى الشكل والموضع. والجدار الخلوى ان وجد فهو سليلوزى عادة . ويوجد انخفاض فى جسم الطحلب يقسمه الى جزئين أمامى وخلفى ، ويوجد أحد السوطين فى هذا التجويف . لون الخلايا أخضر مصفر الى بنى ذهبى . ويحتوى البروتوبلاست على بلاستيدات يميل لونها الى البنى وتحتوى على صبغات كلوروفيل أ ، جـ وكاروتينات وزانثوفيلات خاصة . معظم الأجناس لها بقعة عينية وفجوات صغيرة غير منقبضة . مواد التخزين عادة نشا وأحيانا ريوت.

التكاثر الجنسى غير معروف فى معظم هذه الطحالب ، أما التكاثر اللاجنسى فيتم بواسطة انقسام الخلايا أو بتكوين جراثيم متحركة أو غير متحركة ، ومن الأمثلة على هذه الطحالب طحلب دينوكلونيم Dinoclonium (شكل ٥ _ ٧).



شكل ٥ _ ٧ : طحلب دينوكلونيم

أ _ خيط الطحلب ب _ جرثومة .

رابعًا : الطحالب الذهبية Chrysophyta

تحتوى على صبغات الكاروتين والزانثوفيل التى تسود نسبيا على صبغات الكلوروفيل ، لذلك تتراوح ألوانها بين أخضر مصفر الى بنى ذهبى . والمواد المخزنة لا تكون عادة فى صورة نشا ، بل فى صورة زيوت.. ومن أمثلتها طحلب كرومولينا Chromulina وحيد الخلية الوحيد النواة أو طحلب الفوشيريا Voucheria (شكل ٥_٨) المتعدد النوايا والدياتومات Diatoms (شكل ٥_٩) .

الدياتومات: Diatoms

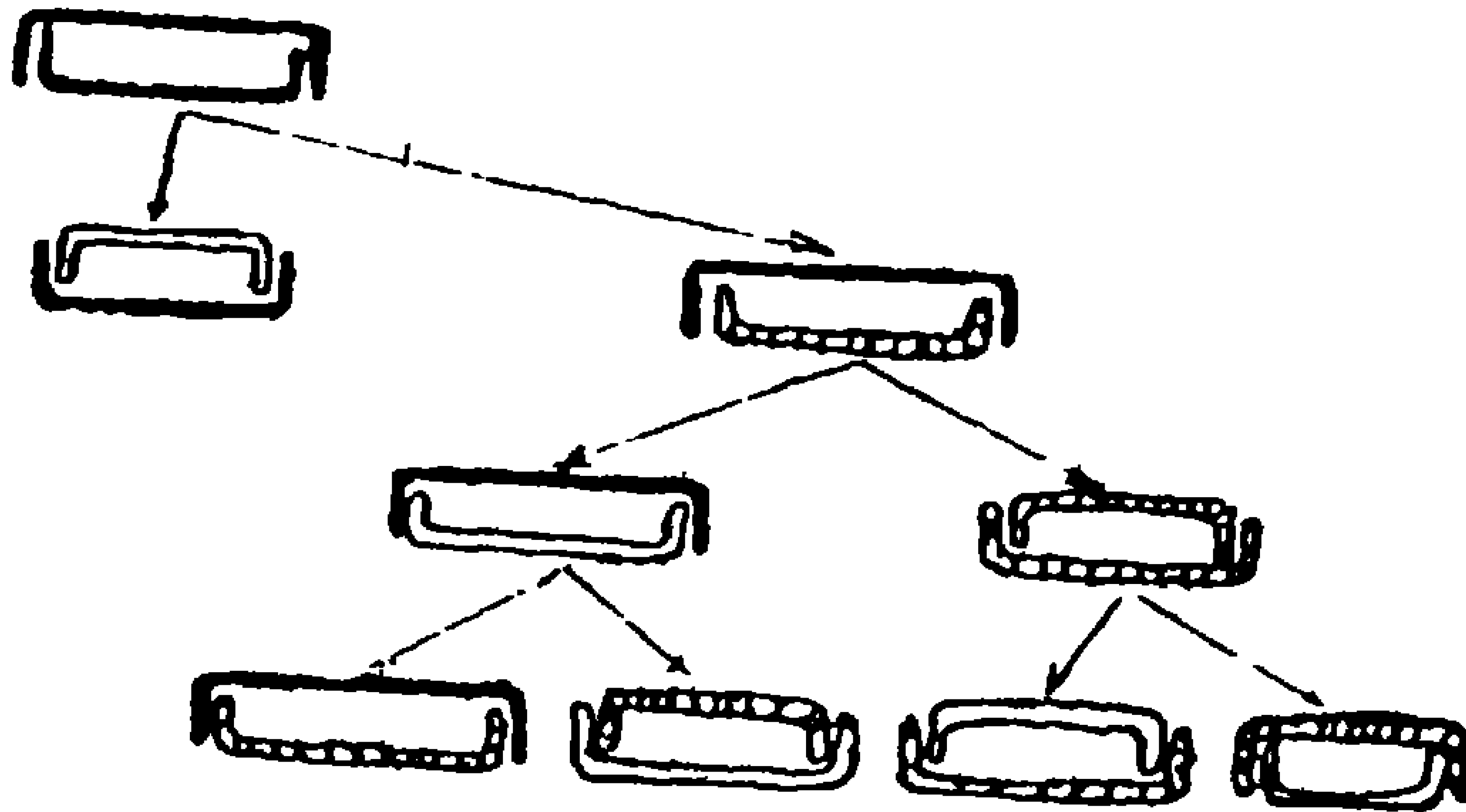
الدياتومات هى مجموعة من الطحالب منتشرة فى جميع أنحاء العالم فى الماء العذب والمالح وفى الأراضى الزراعية ، وتتميز الدياتومات عن كل الطحالب الأخرى بوجود القصعة Frustule (الجدار الخلوى Cell wall) الصلبة المكونة من السليكا كما سبق أن ذكرنا . وبسبب وجود هذه القصعة الصلبة تواجه الخلية مشكلة خاصة عند الانقسام Mitosis . لذلك نجد أن الخلايا الناتجة عن الانقسامات المتعددة تصغر بصفة مستمرة كما هو موضح فى الشكل رقم (٥_١٠) . ولا يتوقف التغير الناتج عن الانقسام فى نقص الحجم فقط ، بل ايضا يحدث تغير واضح فى الشكل . وكثيرا ما تلجأ الخلايا لتعويض هذا النقص فى الشكل والحجم الى تكوين ما يعرف باسم Auxospore حيث تنفصل نصفى القصعة عن البروتوبلاست Protoplast الذى يكبر فى الجسم ثم يكون قصعة جديدة كبيرة وتعود للانقسام مرة ثانية .

وفى بعض الدياتومات يتم تكوين Auxospore نتيجة للتزاوج الجنسى حيث تحدث عملية انقسام اختزالى فى الخلايا الخضرية للدياتومات لتكوين خلايا أحادية الكروموسومات Haploid . ثم تتحد هذه الجاميطات بعد نزع القصعة ويتكون الزيجوت المزدوج الكروموسومات Diploid . ثم يتكون قصعة جديدة كبيره ويستمر

أشباه جذور

شكل ٥ـ٨ : طحلب فوشيرا

شكل ٥ـ٩ : أشكال مختلفة من الدياتومات.



شكل ٥ـ١٠ : خطوات انقسام الدياتومات (لاجنسيا).

التكاثر الخضرى مرة ثانية .

خامسًا : الطحالب البنيــــة Phaeophyta

تتلون طحالب هذه المجموعة باللون البنى . وتحتوى عـادة على كلوروفيل أ ، جـ وكاروتينات خاصة وبعض الصبغات الزانثوفيلية ، ويكـون الغذاء المختزن على شكل لاميناريين ودهن ومانيت Mannite . وقـد لوحظ وجود السليلوز فى الجزء الداخلى من جدار الخلية ووجود المـواد البكتينية فى الجزء الخارجى منه ، وتعيش معظم أفراد هذه المجموعـة فى البحار ومنها الفيوكات Fucales والتى يتبعها جنس الفيوكـس Fucus والسرجاسم Sarggasam والأخير يسمى عشب البحر وقد تصل أطوال هذه الطحالب الى أكثر من متر . أما طحلب الفيوكس فينتشر علـى السواحل الصخرية للبحار خصوصا فى المناطق الباردة .

سادسًا : الطحالب الحـمراء Rhodophyta

وهى طحالب حمراء اللون وحيدة الخلية أو عديدة الخلايا تحتوى عادة على كلورفيل أ وصبغات الفايكوبلينات . ويحتوى الجدار الخلـوى على السليلوز والمواد المخزنة عادة نشا ولا تحمل هذه الطحالـب أى أسواط .

الوضع التقسيمى للطحالب عديمة اللون : Leucophytes

قد تفقد البلاستيدات الخضراء من بعض الطحالب . وفقـد البلاستيدات فى الخلايا ذات النواه الحقيقية Eucaryotes تعتبـر خطوة غير رجعية Irreversible وينتج عنها فقد كلى فى القـدرة على التمثيل الضوئى .

ويوجد عدد من الطحالب وحيدة الخلية غير الملونة والتى يمكـن وضعها ضمن الطحالب بناء على صفات خلوية أخرى ، وهى تشبه الطحالب

الناتجة عنها فى كل شئ فيما عدا عدم قدرتها على التمثيل الضوئى ، وتسمى الطحالب البيضاء Leucophytic algae, Leucophytes .

ويشمل هذا القسم كائنات وحيدة الخلية متحركة بالأسواط Flagellate أو غير متحركة ناتجة عن الطحالب الخضراء الخيطية ،وكذلك بعض الدياتومات.

ويمكن تمييز هذه Leucophytes بسهولة ، اذ كثيرا ما يحتفظ الكائن بجميع صفاته الأصلية ، فيما عدا فقد البلاستيدات الخضراء. وحتى - فى بعض الأحيان - قد لا تفقد البلاستيدات وتظل موجودة ولكن يفقد منها الكلوروفيل فقط، وتعرف البلاستيدة الخالية من الكلوروفيل باسم Vestigial . ولا يمكن أن يساورنا الشك أن مثل هذه الكائنات غير الممثلة للضوء ذات علاقة وطيدة لتلك التى لم تفقد القدرة على التمثيل الضوئى التى نتجت عنها كخطوة من خطوات التطور.

وفى الحقيقة فان هذا التغيير يمكن مشاهدته عمليا بتعريض سلالات معينة من اليوجيلينا ببعض المضادات الحيوية كالاستربتومايسين Streptomycin أو جرعات صغيرة من الأشعة فوق البنفسجية UV-Light أو لدرجات حرارة مرتفعة فتنتج كائنات شبيهة تماما باليوجيلينا ولكنها عديمة اللون Colorless . وهذه الكائنات عديمة اللون لا يمكن تمييزها عن السوطيات Flagellates التابعة للجنس Astasia من أفراد البروتوزوا Protozoa.

لذلك فالطحالب البيضاء Leucophytic algae تمثل مشكلة تقسيمية خاصة ، ويبدو أن أفضل وضع للطحالب البيضاء هو وضعها فى قسم خاص من الطحالب وليس البروتوزوا كما يفضل علماء الحيوان Zoologists . فعلماء الحيوان ينظرون الى هذه الكائنات ذات النواة الحقيقية - وحيدة الخلية - غير قادرة على التمثيل الضوئى على أنها بروتوزوا . وقد ثبت معمليا أنه يمكن انتاجها من الطحالب. ولذلك فهذه المجموعة من الكائنات تمثل أحد أهم الدلائل على المرحلة الانتقالية بين مجموعتين أساسيتين من الأحياء الدقيقة ذات النواة الحقيقية.

الفصل السادس

البروتوزوا Protozoa

تعريف البروتوزوا :

ان أبسط تعريف للبروتوزوا يقول بأنها حيوانات وحيدة الخلية . ولكن كالعادة فان تعريفا كهذا يترك عددا من الأسئلة مفتوحا دون اجابة ، وعلى سبيل المثال وليس الحصر ، فالسؤال الأول الذى يتبادر للذهن هو : ما هو تعريف حيوان ؟

فاذا كان السؤال للتمييز بين الحيوانات والنباتات الراقية ، كالشجرة والكلب مثلا ، فانه من السهل التمييز بينهما على أساس الحركة والاحساس وطريقة التغذية ، ولكن هذه الصفات لا يمكن استعمالها باستمرار للتمييز بين النبات والحيوان ، فالأسفنج يعتبر من بين الحيوانات ، ولكنه لا يتحرك ، كما أن بعض النباتات قادرة على الاحساس والحركة مثل نبات الست مستحية والنباتات آكلة الحشرات.

ومن ناحية ثانية نجد أن بعض الكائنات المتحركة والمحتوية على كلوروفيل كاليوجيلينا Euglena تقسم كطحلب كما تعتبر أيضا بروتوزوا ، وذلك يتوقف على من الذى يقوم بالتقسيم ، هل هو عالم نبات Botanist أم عالم حيوان Zoologist . فاليوجيلينا تقوم بعمليات التمثيل الضوئى مثل النباتات ، ولكنها تتحرك وتحس وتستجيب بسرعة للمؤثرات كالحيوانات ، كما أن بعضها يتغذى تغذية حيوانية الى جانب التمثيل الضوئى . بل أن بعضها يفقد الكلوروفيل تحت ظروف خاصة فى المعمل كما سبق أن أشرنا الى الاعتبارات الخاصة لتقسيم الطحالب البيضاء Leucophytic algae فى نهاية الفصل السابق .

ومن ناحية ثالثة نجد أن بعض الكائنات الخلوية تكون وحيدة النواة فى بعض أطوارها ، وتكون متعددة الأنوية فى بعض أطوارها الأخرى ، كما أنها تحتوى على جدر خلوية فى بعض أطوارها ، وفى بعض الأطوار الأخرى لا تكون جدر خلوية وتتحرك بحركة أميبية ، وذلك مثل الكائنات

المعروفة باسم الفطريات اللزجة Slime mold فهى تقسم أحيانـــا كفطريات ، وأحيانا تقسم كبروتوزوا ...

وقد أدى وجود درجات متفاوتة من التشابه بين الفطريـــات والطحالب والبروتوزوا وكذلك وجود حلقات الاتصال بين هذه المجموعات الثلاث من الأحياء (مثل الفطريات اللزجة والطحالب البيضاء وغيرها) الى فصل هذه المجموعات الثلاث من المملكتين النباتية والحيوانيـــة ودفعت بهيكل Haeckel لاقتراح المملكة الثالثة أو مملكة الأحيـــاء البسيطة حقيقية النواه (مملكة البروتستا) اضافة الى المملكتيـــن التقليديتين النباتية والحيوانية .

ولا شك أن تسمية البروتوزوا Protozoa باسم الحيوانات وحيدة الخلية جاء على اعتبار أن جسم الحيوان الأولى يشبه الخلية الواحـدة فى الحيوان عديد الخلايا هى جزء مخصص لوظيفة خاصة كالحركـــة أو الاحساس أو الافراز ، أما المادة الحية للحيوان الأولى ، فوحدة كاملـه تقوم بجميع العمليات الحيوية دون تخصيص . وهذا ما لا يمكن للخليـــة الواحدة فى الحيوان العديد الخلايا أن تقوم به . كما أن تركيب الحيوان الأولى فى كثير من الأنواع أكثر تعقيدا عن تركيب الخلية فى الحيوان عديد الخلايا . وهذا سبب آخر لفصل البروتوزوا عن المملكة الحيوانية .

وبناء على ذلك تكون البروتوزوا عبارة عن مجموعة مختلفة اختلافـــا كبيرا من حيث الحجم والشكل ، فبعضها يماثل فى صغره حجم بعـــض أنواع البكتيريا (عدة ميكرومترات) وبعضها من الكبر بحيث يمكن رؤيتـــه بالعين المجردة (ملليمتر واحد أو أكثر) وهذه طبعا هى حدود الحجم ، ولكن معظم البروتوزوا أكبر من البكتيريا ولكنها لا ترى بالعين المجردة. ويوجد فى الطبيعة حوالى ٢٠ر٠٠٠ نوع من البروتوزوا .

تعيش معظم البروتوزوا معيشة حرة Free living فى الطبيعـة فى أماكن كثيرة ، فهى توجد فى المياه العذبة والمالحة ، كما توجـــد فى التربة الزراعية وفى البيئات الهوائية مثل سطح الأشجار وغيرها ، كمـــا أن بعض أفراد البروتوزوا توجد متطفلة على الانسان والحيوان والنبات.

ويسبب بعضها أمراضا فتاكة ·

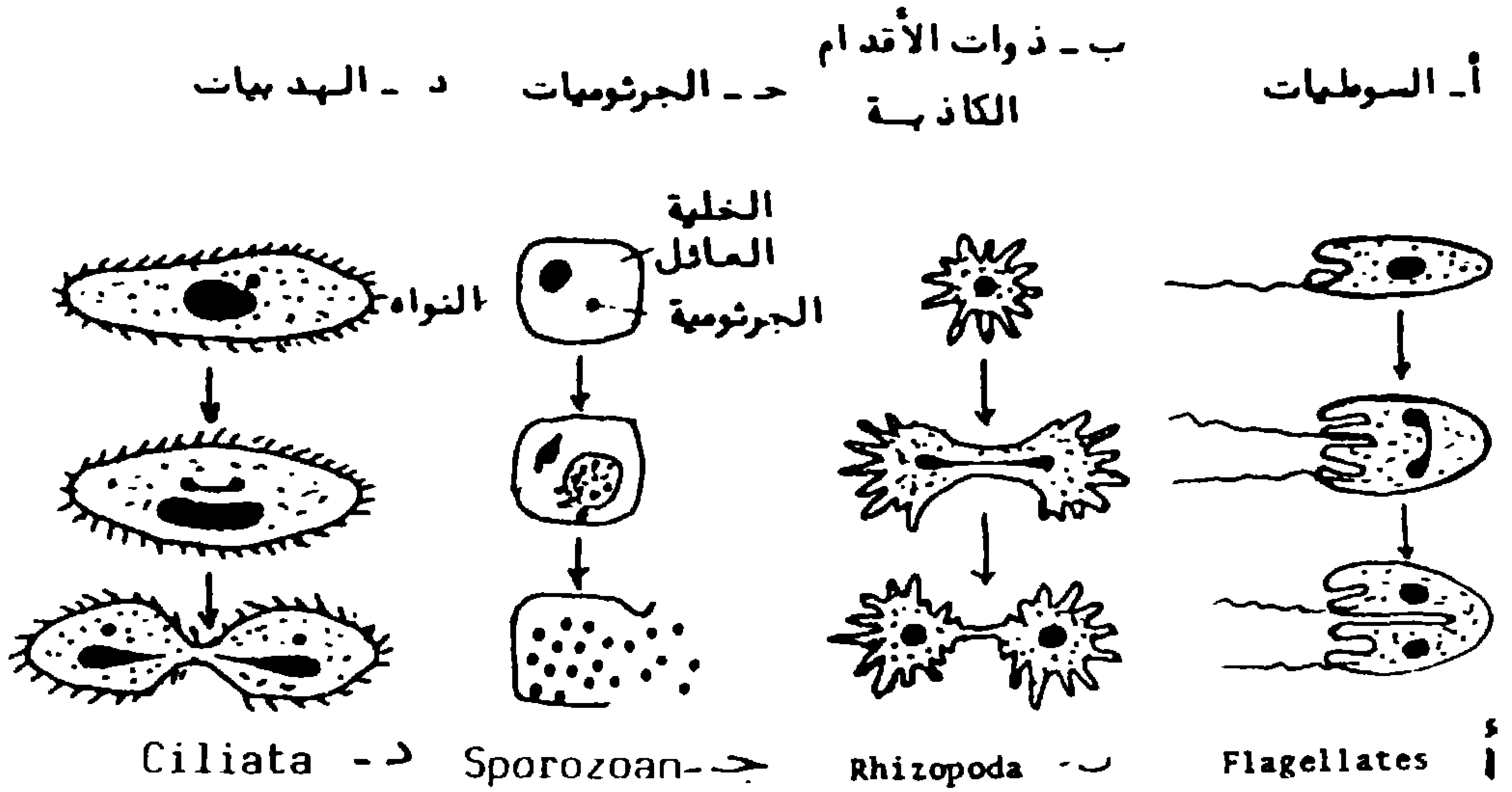
وبصفة عامة ، فان البروتوزوا تتغذى عن طريق ابتلاع المواد الصلبة Phagocytosis أو عن طريق تناول الجزيئات الكبيرة ذائبة فى الماء بواسطة عملية الشرب Pinocytosis حيث تتناول الخلية قطيرات ماء ذائبا فيها الجزيئات الغذائية عن طريق فجوات فى الغشاء الخلوى تشبه الفجوات الغذائية التى تتكون عند ابتلاع الطعام · وتختلف عملية الشرب Pinocytosis هذه عن عملية النقل النشط Active transport التى تحدث فى الكائنات ذات النواه البدائية Procaryotes فى أن عملية الشرب أقل اختيارا من الثانية ، وأى جزيئات ذائبة فى الماء يمكنها الدخول الى الخلية ، أما فى عملية النقل النشط فان جزئيات معينة فقط هى التى يمكنها الدخول الى الخلية ·

وتختلف البروتوزوا عن بعضها اختلافا كبيرا من حيث الشكل والعادات والموطن ، فبعضها مغزلى أو بيضاوى أو مستدير ، وبعضها يحمل أسواطا Flagella أو أهدابا للحركة ، ومنها ما ليس له أعضاء حركة · وبعض خلايا البروتوزوا تمر بأطوار — أشكال — مختلفة فى دورة حياتها ، وليس للبروتوزوا جدر خلوية · وللبروتوزوا نواة واحدة عادة وتتكاثر البروتوزوا بالانقسام الثنائى البسيط ، وقد يتكاثر بعضها تكاثرا يشبه التكاثر الجنسى ، وتقسم البروتوزوا (شكل ٦—١) حاليا الى أربعة أقسام رئيسية نتناولها فيما يلى :

أولا : قسم السوطيات

Mastigophora or Flagellates

هى بروتوزوا تتحرك بواسطة سوط واحد أو أكثر ، وتنقسم الخلية فى الاتجاه الطولى ، ويشمل هذا القسم عددا كبيرا من الكائنات تختلف فى أجناسها وأنواعها اختلافا كبيرا فى التركيب والعادات · وقد سبق شرح طريقة الانقسام فى هذه السوطيات عند مناقشة الطحالب السوطية الممثلة



شكل ٦ـ١ : الأقسام الرئيسية الأربعة من البروتوزوا

أ ـ السوطيات: الحركة بالأسواط (وأحيانا أميبية) التكاثر بالانقسام الثنائي الطولي · التكاثر الجنسي نادر · بعضها يسبب أمراض·

ب ـ ذوات الأقدام الكاذبة: الحركة اميبية (وأحيانا بالأسواط) التكاثر بالانقسام الثنائي معظمها تعيش حرة·

جـ ـ الجرثوميات: تكون جراثيم · لا توجد أهداب أو أسواط (ما عدا أسواط الجاميطات) كلها مرضية·

د ـ الهدبيات: الحركة بالأهداب · يوجد نوعين من الأنوية (صغيرة وكبيرة) التكاثر بالانقسام العرضي ·

للضوء (الطحلبية) وكذلك الطحالب البيضاء الناتجة عن فقد بعض الطحالب لقدرتها على تكوين الكلوروفيل · وهنا نوجه القارىء الكريم للمناقشة الخاصة بهذا الموضوع فى نهاية الفصل السابق · ونظرا لأنه قد سبق مناقشة هذا الموضوع ، فستعتبر الكائنات ذات النواة الحقيقية التابعة Sub class phytomastigophora ذات القدرة على التمثيل الضوئى والكائنات التى فقدت القدرة على التمثيل الضوئى كنتيجة للطفرات والمعروفة باسم Leucophytes (وهى كائنات تشبه الكائنات الممثلة للضوء فى كل شىء ما عدا القدرة على التمثيل الضوئى) ضمن قسم الطحالب والذى سبق مناقشته فى الفصل السابق ·· وسيقتصر الشرح هنا على بعض نماذج السوطيات التى ليس لها مثيل فى الطحالب والتى تسمى السوطيات الحيوانية Zoomastigophora مثل التريبانوسوما (الطفيل الذى يسبب مرض النوم) والتريكونيمفا Trichonympha التى تعيش فى القناة الهضمية للنمل الأبيض·

(١) البروتوزوا المسببة لمرض النوم (تريبانوسوما) Trypanosoma

هى كائن وحيد الخلية ذو نواة حقيقية يصيب الانسان فى وسط وجنوب أفريقيا بمرض النوم (وان كان هناك مرض فيروسى يسمى مرض النوم أيضا وهو Encephalitis) ويتطفل هذا الكائن وحيد الخلية على الحشرات الممتصة للدماء وعلى بعض اللافقاريات ، وغالبية الفقاريات فى أفريقيا وذلك دون أن يصيبها بضرر يذكر · شكل الخلية مغزلية مقوسة مدببة عند طرفيها ولها سوط واحد يبرز من الطرف الأمامى (شكل ٦-٢) وينشأ من جسم حبيبى دقيق يعرف بالحبيبة القاعدية Basal granule توجد بالسيتوبلازم عند مؤخر الجسم ، ويتجه السوط بمحاذاة الجسم الى الأمام حيث يبرز من الطرف الأمامى ، ويتصل السوط بجدار الجسم بغشاء متموج ، وتسبح الخلية بسرعة بتموج السوط والغشاء المتموج · ويوجد أنواع مختلفة من التريبانوسوما تنتقل من شخص لآخر بواسطة الحشرات الماصة للدماء مثل ذبابة تسمى تسى تسى Tsetse · يتكاثر هذا الكائن بواسطة الانقسام الثنائى البسيط طوليا (شكل ٦-٣)

والتريبانوسوما من نوع الكائنات التى تمتص الغذاء Osmotrophic عبــر الغشاء الخلوى ولا تبتلعه كما فى الأميبا ٠

ثانيا : قسم ذوات الأقدام الكاذبــة

Class Rhizopoda

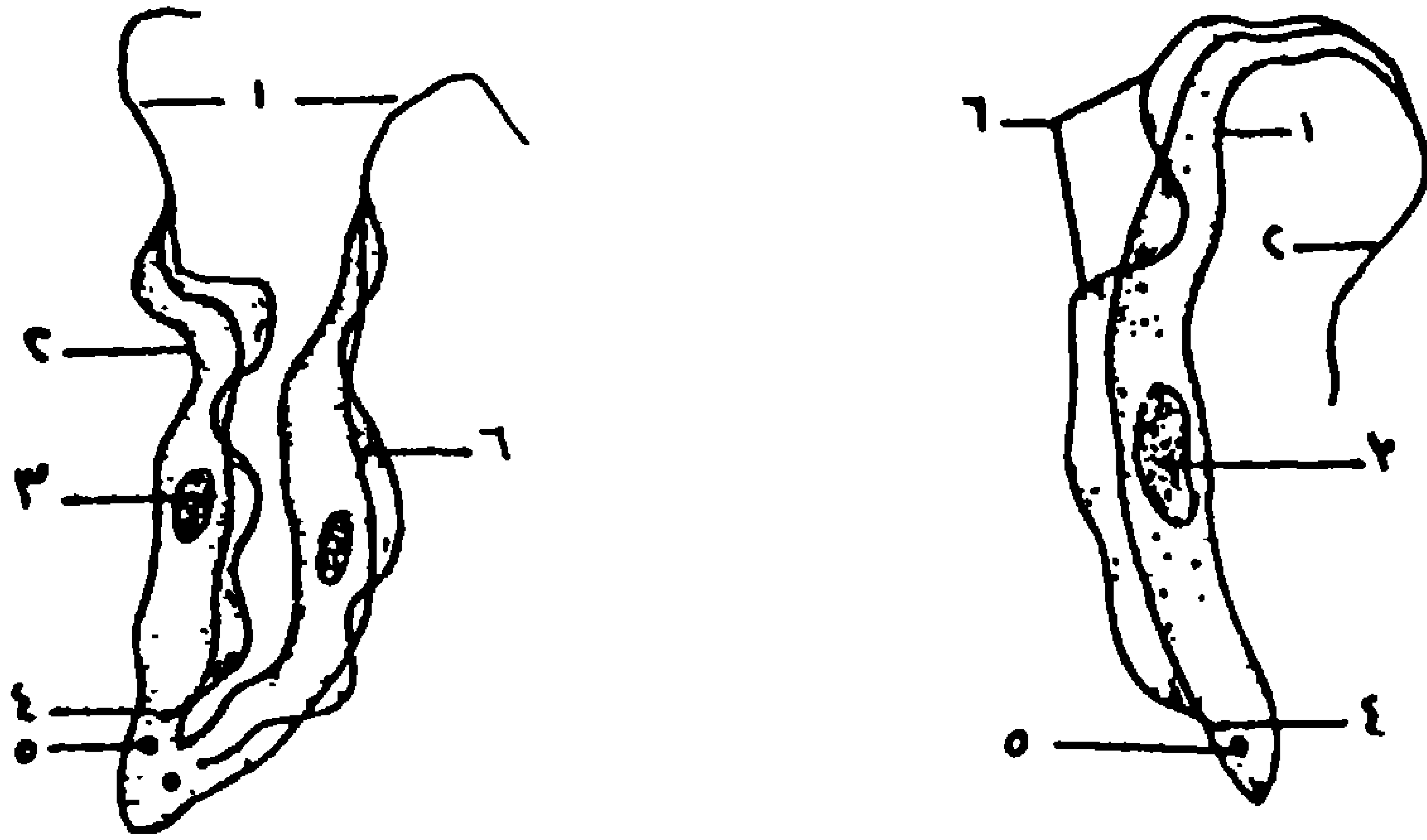
تتحرك الكائنات التابعة لهذا القسم بواسطة الأقدام الكاذبــة Pseudopodia أساسا ، كما أن بعضها يتحرك أيضا بالأسواط ، وتتغذى بالابتلاع Phagotrophic وتنقسم بالانقسام الثنائى Binary fission ٠ ويعيش معظمها معيشة حرة Free living فى المياه الراكدة والأراضى الرطبة ويعيش بعضها متطفلا فى القناة الهضمية للحيوانات٠٠ ويقسم هذا القسم الى خمسة رتب Orders وهى :

١ـ رتبة أنبوبية الأقدام الكاذبة : Order Labosa

وتتميز بأقدامها الأنبوبية غير المدببة ، ويتميز فيها السيتوبــلازم الى منطقتين : الاكتوبلازم (الطبقة الخارجية) والاندوبلازم (الطبقــة الداخلية).وتشمل هذه الرتبة عددا كبيرا من الكائنات تختلف عن بعضها فى عدد الأنوية ووجود هيكل غير مثقب من عدمه ٠ ومن أمثلتها الأميبــا Amoeba والانتاميبا Entamaeba والأرسلا Arcella .

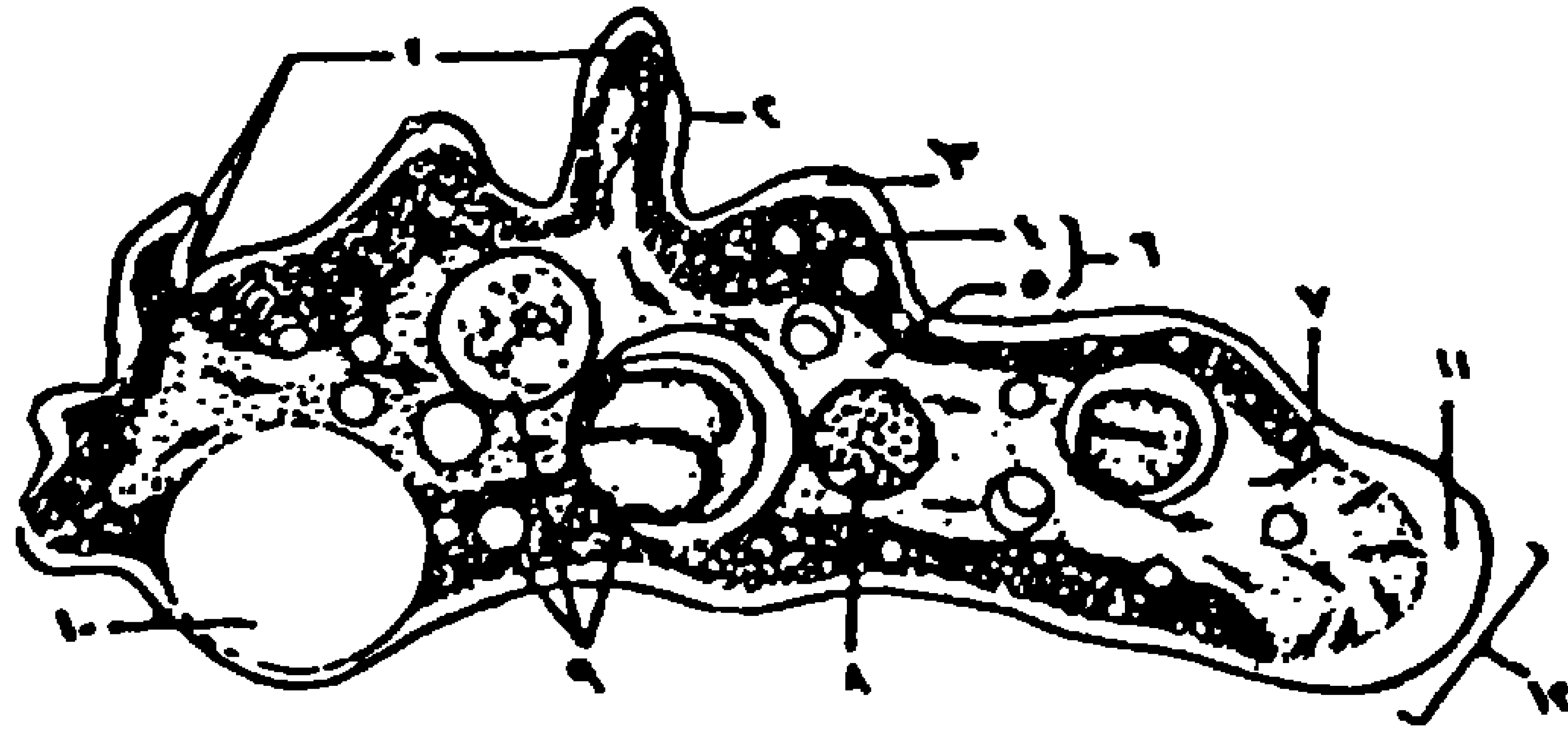
أـ الأميبا : Amoeba

تعيش الأميبا فى برك المياه العذبة والأراضى الرطبة ، وهــى عبارة عن كتلة بروتوبلازمية مجهرية يتراوح قطرها بين ١٢٧ ، ٣٤٠ ميكرو متر ويبلغ قطر أكبر انواعها حوالى نصف ملليمتر فتظهر هذه للعيــن المجردة كنقط لامعة فى الماء ٠



شكل ٦ـ٢ : التريبانوسوما (الاجزاء)
١ـ جليد ٢ـ سوط ٣ـ نواه
٤ـ حبيبة قاعدية ٥ـ نواه حركية
٦ـ غشاء متموج ٠

شكل ٦ـ٣ : التريبانوسوما
(الانقسام الثنائى)



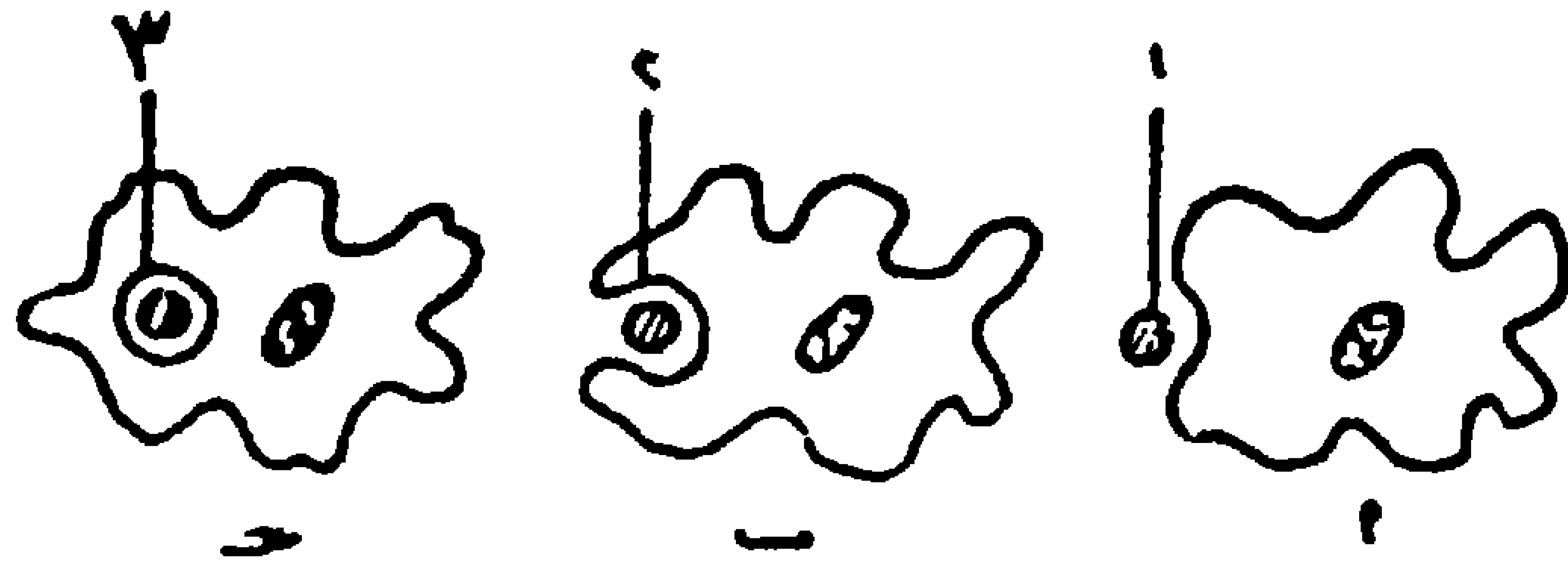
شكل ٦ـ٤ : الاميبا

١ـ مناطق الاسالة	٢ـ غشاء بلازمى	٣ـ الاكتوبلازم
٤ـ البلازما الهلامية	٥ـ البلازما السائلة	٦ـ الاندوبلازم ٠
٧ـ منطقة هلامية	٨ـ النواه	٩ـ فجوات غذائية
١٠ـ فجوة منقبضة	١١ـ قلنسوة شفافة	١٢ـ قدم كاذب

ويحتوى البروتوبلازم على الكثير من الحبيبات والقطرات (شكل ٦ــ ٤) ويحيط بالبروتوبلازم الغشاء الخلوى أو الغشاء البلازمى Plasmolemma الذى يسمح بدخول المواد للخلية ، ولكنه لا يسمح بخروج محتويات الخلية . وعندما تقطع الاميبا الى جزءين يستدير كل منهما ويكون غشاء بلازمى يحيط به نفسه بالكامل ليمنع فقد محتوياته . ويعيش الجزء المحتوى على النواة ويتغذى ويتكاثر ، أما الثانى فيتوقف ويموت بعد قليل . وليس للنواة مكان ثابت فى البروتوبلازم . وقد يوجد بالخلية فجوات غذائية وفجوات منقبضة مختلفة الأحجام .

الحركة: تتحرك الأميبا حركة واضحة بواسطة الأقدام الكاذبة ، ويتكون القدم الكاذب فى أى جزء من سطح الجسم ويستمر القدم فى النمو بعد تكونه بعض الوقت بسبب تدفق بعض بروتوبلازم الأميبا داخله ولكن بعد مدة يتكون قدم آخر فى مكان مجاور فيتدفق البروتوبلازم فى القدم الجديد وبهذه الطريقة تتحرك الأميبا حركة غير منتظمة تسمى الحركة الأميبية وهى مزيج من التدفق والزحف والتدحرج .

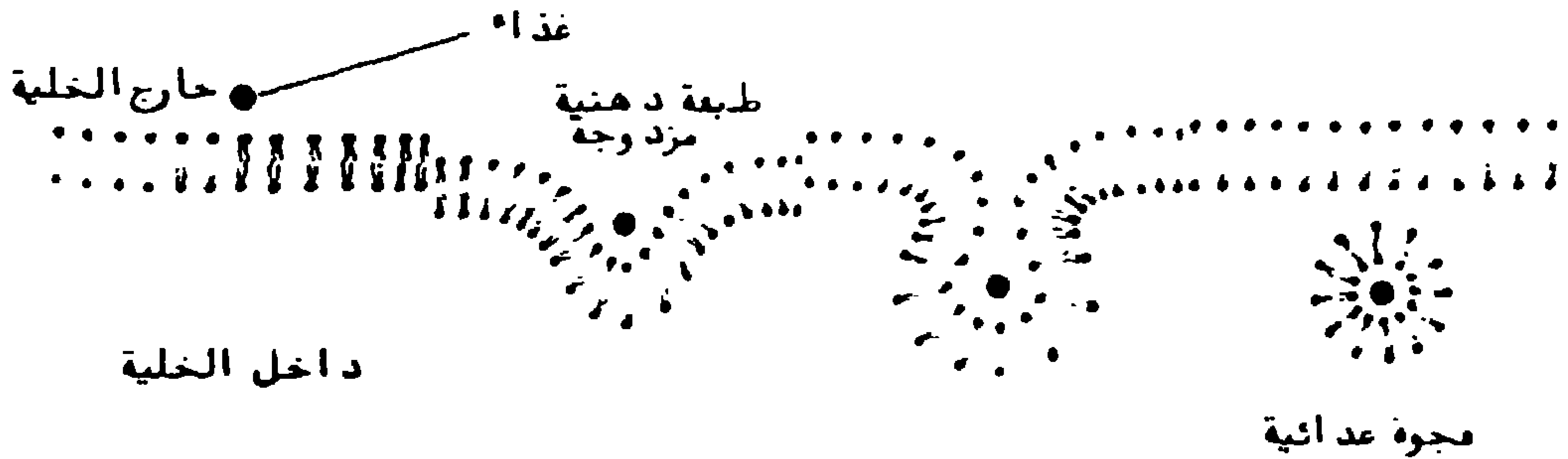
التغذية: تتغذى الأميبا (شكل ٦ــ٥) على الأحياء المجهرية الصغيرة كالدياتومات والبكتيريا والكائنات وحيدة الخلية . وتستطيع الأميبا التمييز ما بين الغذاء وغيره من المواد . وعندما تلامس الأميبا الغذاء فانها تتوقف عن الحركة وتتكون الأقدام الكاذبة على جانبى الغذاء وفوقه ثم تحيط به احاطة تامة فيصبح الغذاء محبوسا مع قليل من الماء فى تجويف يعرف بالفجوة الغذائية Food vacuole وتسمى هذه العملية بالابتلاع Phagocytosis وتشير اليها بعض الكتب بالالتهام . كما أن الخلية تشرب أحيانا بطريقة مماثلة ، ولذلك تسمى عملية الشرب Pinocytosis ، وكلا العمليتين الابتلاع والشرب يطلق عليهما الاصطلاح Endocytosis . وتحاط الفجوات الغذائية أو المائية التى تبتلعها الخلية بغشاء يشبه الغشاء الخلوى (وحدة الغشاء Unit membrane) مثلها فى ذلك مثل مكونات الخلية كأجسام جولجى Golgi bodies والميتوكوندريا وغيرها . . .



شكل ٦ ـ ٥ طريقة تكوين الفجـــوة الغذائيـــة

١ ـ الغذاء   ٢ ـ فنجان غذائى ٠   ٣ ـ فجوة غذائية ٠

والملاحظ أن السطح الخارجي للغشاء الخلوى يصبح السطـــح الداخلى للفجوات الغذائية ، بينما السطح الداخلى للغشاء الخلـــوى يصبح هو السطح الخارجى للفجوات الغذائية ٠ (شكل ٦ ـ ٦) ٠



شكل ٦ ـ ٦ : رسم توضيحى يبين أن السطح الخارجى للغشاء الخلوى يصبح السطح الداخلى للفجوة الغذائية ، والسطح الداخلى للغشاء الخلوى يصبح السطح الخارجى للفجوة الغذائية ٠

وتختلط مكونات الفجوة الغذائية مع مكونات فجيوات Vesicles خاصة تسمى الليسوسومات Lysosomes (الليسوسومات عبارة عـــن فجيوات خاصة ذات غشاء مماثل للغشاء الخلوى أيضا وحدة الغشـــاء Unit membrane) تحتوى على عدد كبير من الانزيمات القادرة على تحليـل معظم العناصر الغذائية التى تبتلعها الخلية ، وتنفصل هـــــذه الليسوسومات من أجسام جولجى) فيتم هضم مكونات الفجوات الغذائيـة

فقط دون هضم مكونات السيتوبلازم ، وذلك لانفصال مكونات الفجوات الغذائية والليسوسومات عن السيتوبلازم بوحدة الغشاء وبعد هضم مكونات الفجوات الغذائية تمتص مكوناتها المهضومة في السيتوبلازم لبناء مكونات الخلية ، أما المواد الصلبة المتخلفة عن الهضم ، فتطرد الى خارج الخلية في عملية الاخراج Exocytosis بطريقة معاكسة لطريقة الابتلاع Phagocytosis .

التنفس: يدخل الأكسجين الى الخلية عبر الغشاء الخلوى بالانتشار حيث يتم أكسدة المكونات الغذائية لانتاج الطاقة التى تستخدم في الحركة والنشاطات المختلفة . أما ثانى أكسيد الكربون الناتج فانه يتم التخلص منه بالانتشار أيضا أما الماء فيتم التخلص منه بواسطة الفجوات المنقبضة Contractile vacuole .

الاخراج: تخرج الغازات بالانتشار كما أشرنا في التنفس ، أما خروج السوائل فيتم بواسطة فجوات خاصة توجد عادة في مؤخرة الخلية ، وتسمى الفجوات المنقبضة Contractile vacuole وهذه الفجوات تعمل كمضخة لاخراج الماء الذى يدخل الى الخلية باستمرار حتى لا تنفجر الخلية في الأوساط المائية ذات الضغط الأسموزى الأقل من الضغط الأسموزى للسيتوبلازم . وهذه الفجوات المنقبضة تقوم بعمل الجدار الخلوى في الكائنات ذات النواة البدائية Procaryotes والذى يمنع انفجار الخلايا في الأوساط المائية أيضا .

التكاثر: تتكاثر الأميبا بالانقسام الثنائى (شكل ٦-١) وهو نوع بسيط من الانقسام غير المباشر ، فتختنق النواة دون تلاشى الغشاء النووى ودون تكوين مغزل ، ويعقب اختناق النواه اختناق السيتوبلازم ثم انقسام النواه وتنتهى العملية بانقسام الخلية الى خليتين ثم تنمو كل خلية الى الحجم الطبيعى قبل أن تبدأ في الانقسام مرة ثانية . وتستمر عملية الانقسام هذا طالما ظلت الظروف مناسبة . أما اذا واجهت الخلية ظروفا غير مناسبة مثل الجفاف أو قلة الغذاء ، فان الأميبا تتكور وتفرز حول نفسها غلافا واقيا مكون من ثلاث طبقات يعرف باسم الحويصلة ثلاثية الطبقات Three layored cyst تكمن داخلها الأميبا

وتقل سرعة العمليات الحيوية الى الحد الأدنى ، فاذا عادت الظـروف مناسبة للنمو مرة ثانية فان الحويصلة تذوب وتخرج الأميبا لاستئناف النمو . وقد يحدث أحيانا داخل الحويصلة انقسام عديد وتختلف تفاصيل هـذا الانقسام فى الأنواع المختلفة ، والغالب أن تنقسم النواة انقساما مباشـرا الى عدد كبير من الأنوية تتجه صوب سطح السيتوبلازم ويحاط كل منهـا بجزء من السيتوبلازم . وعندما تذوب الحويصلة تخرج الأفراد الصغيـرة على شكل أميبات صغيرة ذات أقدام كاذبة مدببة تسمى Pseudopodiospore .

ب ـ أنتاميبا اللثة Entamoeba gingivalis

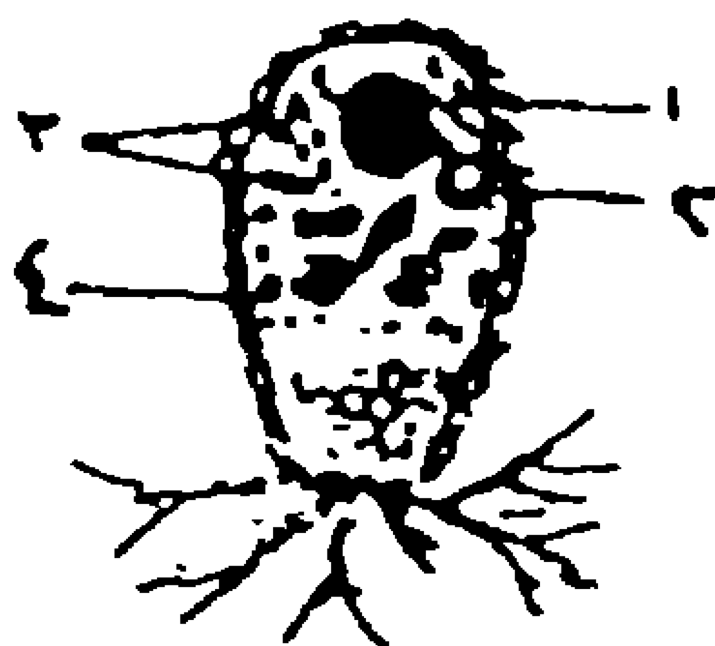
تعرف الأميبا الطفيلية باسم الأنتاميبا ، ومنها انتاميبا اللثـة ، وهى توجد فى فم ٧٥٪ من البشر حيث تتغذى بالبكتيريا والخلايا المفككة وتعيش بوجه خاص فى المسافات بين الأسنان واللثة عند مرضى البيوريـا Pyorrhea ، وهى لا تسبب المرض ، ولكنها تؤدى الى مضاعفاتـه . وهذه الأميبا لا تتحوصل وتنتقل العدوى من فم لآخر أثناء الأكـل أو التقبيل . وتحدث العدوى فيمن لا يهتمون بنظافة أسنانهم .

جـ ـ أنتاميبا الدوسنتاريا Entamoeba histolytica

تعيش فى أمعاء الانسان وتضر بالغشاء المخاطى المبطن للأمعـاء عن طريق افراز انزيم يذيبه . كما تتغذى على الكرات الدموية التـى تنزف بعد اذابة الغشاء المخاطى ، وقد تسير فى الدم الى الكبد وتكون خراجات فيه . وتنتقل العدوى عن طريق الحويصلات لأن الانتاميبـا النشطة من هذا النوع تموت عند خروجها من الجسم ، أما الحويصـلات فتبقى حية وتنقسم النواة فيها الى أربعة أنوية ، واذا تلوث بها غـذاء انسان فانها تصل للأمعاء من جديد فتخرج الأميبا رباعية الأنويـة من الحويصلات ثم تنقسم مرتين منتجة أربع خلايا صغيرة ذات أقـدام كاذبة . وعندما تكبر هذه الخلايا تهاجم جدر الأمعاء كما سبق الذكـر وتكون قروحا مصحوبة باسهال وتعنى مصحوبين بنزول دم مع انبراز .

٢_ رتبة خيطية الأقدام الكاذبة : Order Filosa

وهى تمتاز بأن أقدامها الكاذبة رفيعة جدا ، خيطية متفرعة عند أطرافها ولكنها لا تتشابك على هيئة شبكه · وليس لها أكتوبلازم واضح ، فقد يكون لها هيكل كلسى مثل يوجليفا Euglypha · شكل (٦_٧) ·



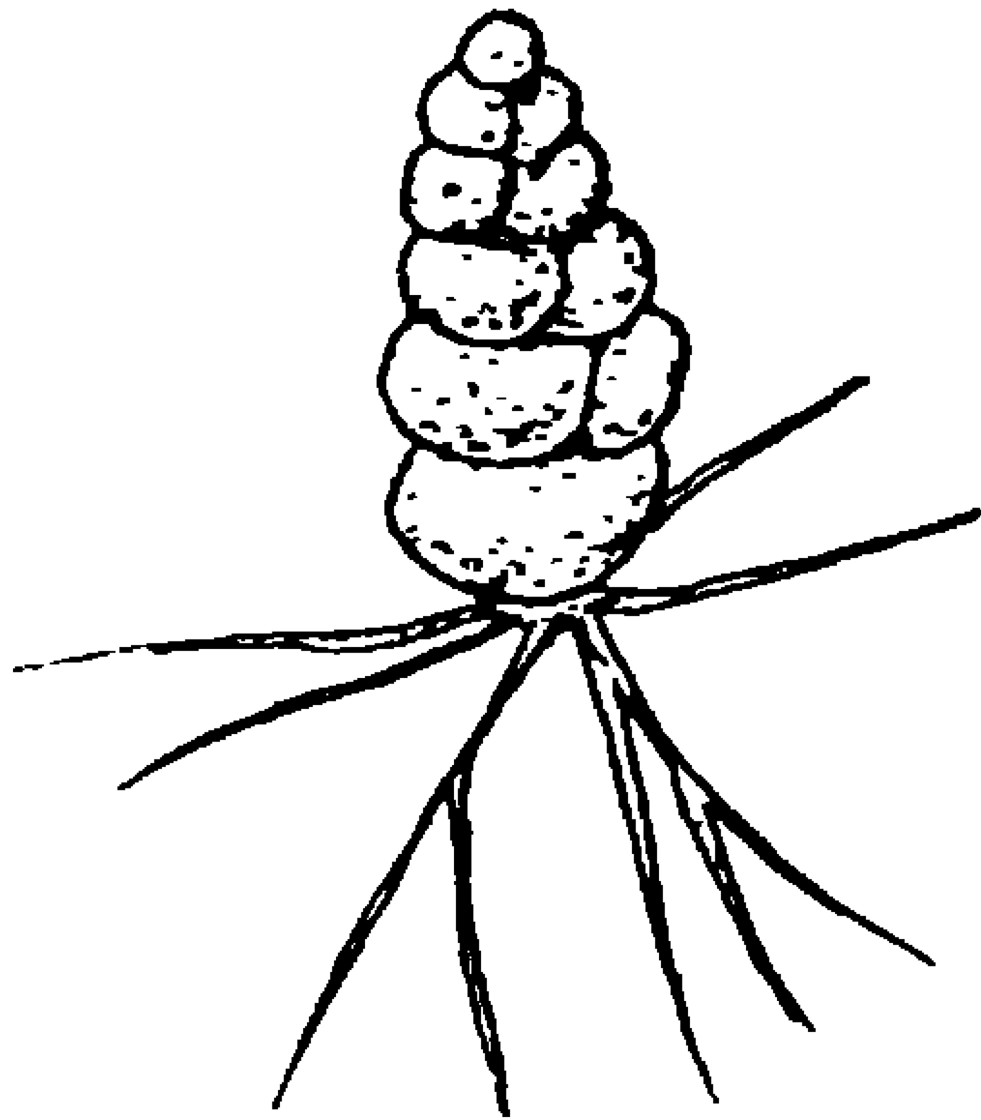
شكل ٦_٧ : يوجليفا (رتبة خيطية الأقدام الكاذبة)
١_ نواة ٢ _ فجوة منقبضة ٣_ صفائح قشرية
٤_ غذاء مبتلع ·

٣_ رتبة المثقبات أو حاملة الثقوب: Order Foraminifera

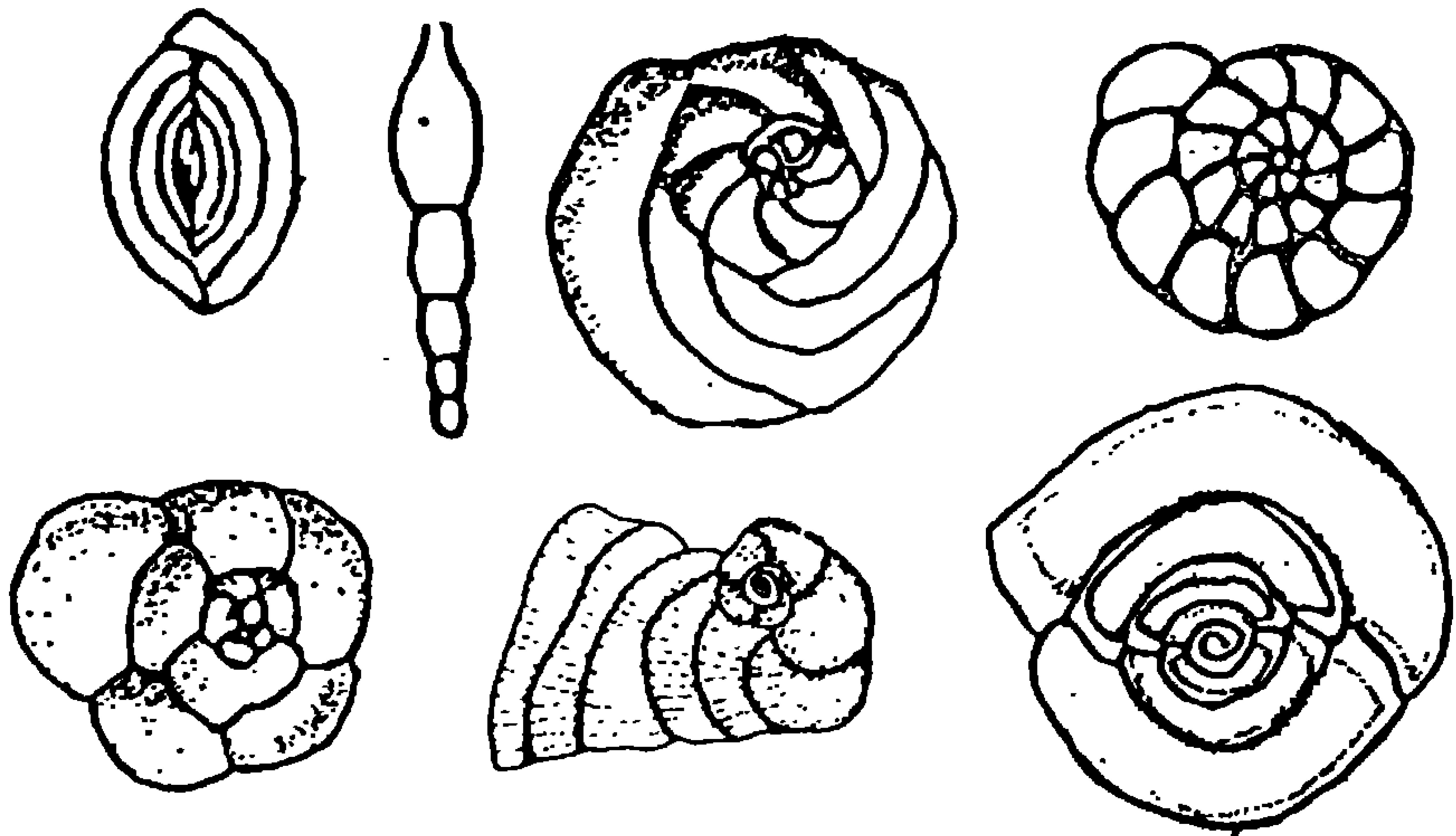
هى ذوات الأقدام الكاذبة التى تفرز لنفسها هيكلا كلسيا مثقبا ذو حجرة واحدة فى معظم الفورامينفرا أو عديدة الحجرات · وتكثر هذه الكائنات فى البحر وتعيش بعض أنواعها طافية قرب السطح الا أن غالبيتها تعيش على طين القاع · وحاملة الثقوب الصغيرة تشبه الأميبا فى الشكل ولكنها سرعان ما تفرز حول نفسها هيكلا كلسيا مثقبا له فتحة هى فتحة المسكن وباستمرار نمو الحيوان فى الحجم يبرز السيتوبلازم الزائد من فتحة المسكن وينشر على سطحه ويفرز مسكنا آخر يلتصق بالأول وهكذا ··· وفى كثير من الأنواع تنتظم حجرات المسكن فى نظام حلزونى فيصبح المسكن شبيها بالقوقعة ، ويشغل هذا الكائن الحى حجرات المسكن

بأكمله ويبعث الى الخارج من فتحة المسكن ومن الثقوب أقداما كاذبة خيطية طويلة تلتصق ببعضها مكونة شبكة سيتوبلازمية ، ولذلك تسمى أحيانا رتبة متشابكة الأقدام الكاذبة تقوم باقتناص الغذاء وهضمه (شكل ٦ـ٨) وتمتاز الفورامينفرا (حاملة الثقوب) بأنها الوحيدة التي يبلغ حجم بعض أفرادها الى مثل حجم رأس الدبوس . وبتراكم هياكل الفورا ـ مينفرا بعد موتها (شكل ٦ـ٩) تتكون الصخور الجيرية والطباشيرية ، ومن أمثلتها الأليفيديم Eliphidium (شكل ٦ـ١٠) .

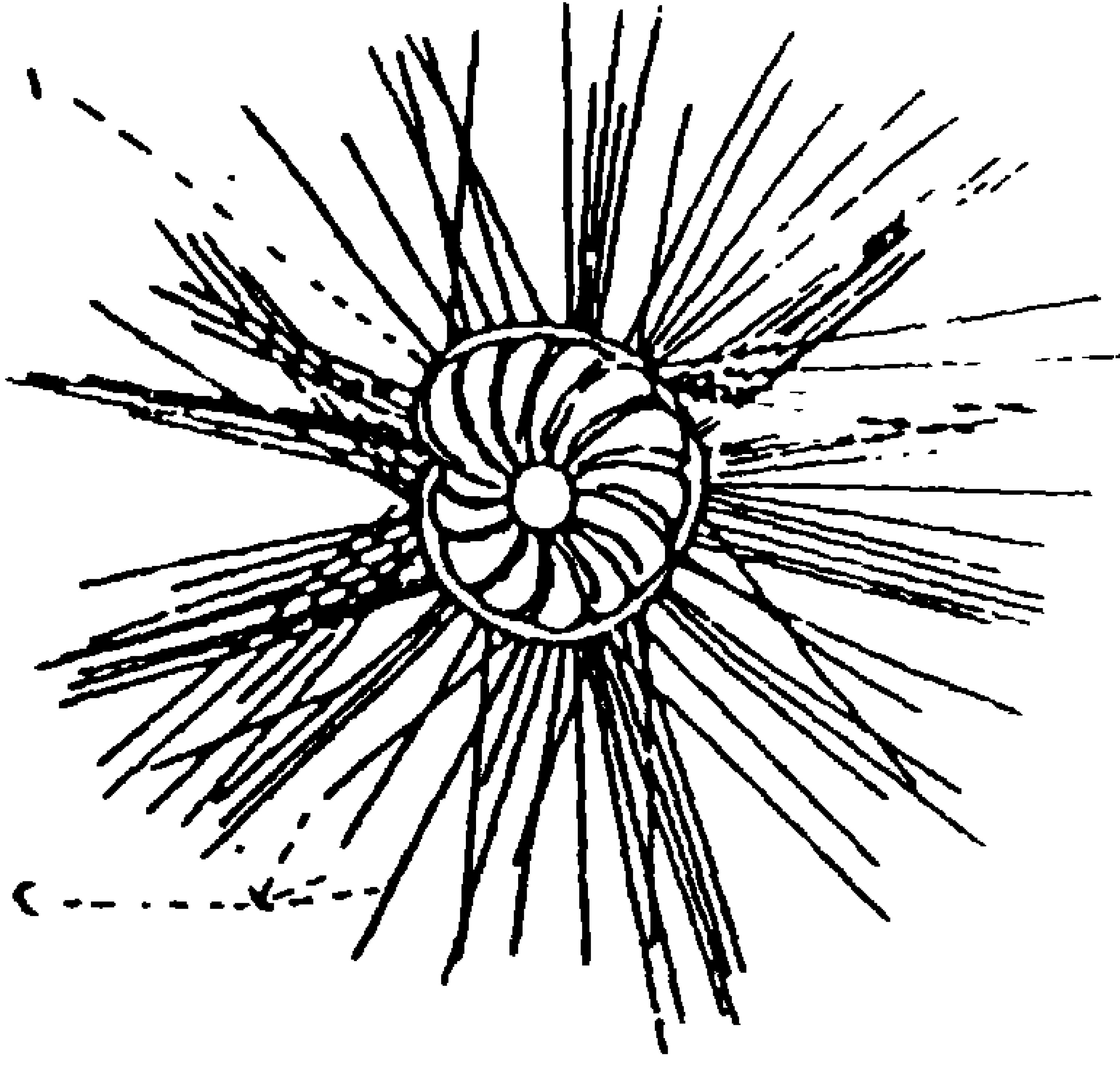
ويبدو أن للفورامينفرا علاقة بتكوين البترول ، فبفحص الصخور وما بها من هذه الحيوانات الحفرية يمكن الاستدلال على حقول البترول .



شكل ٦ـ٨ : رتبة المثقبات أو حاملة الثقوب (الفوار ـ منيفرا) .



شكل ٦ـ٩ : أشكال مختلفة ـ لحاملة الثقوب (الفورا مينفرا)

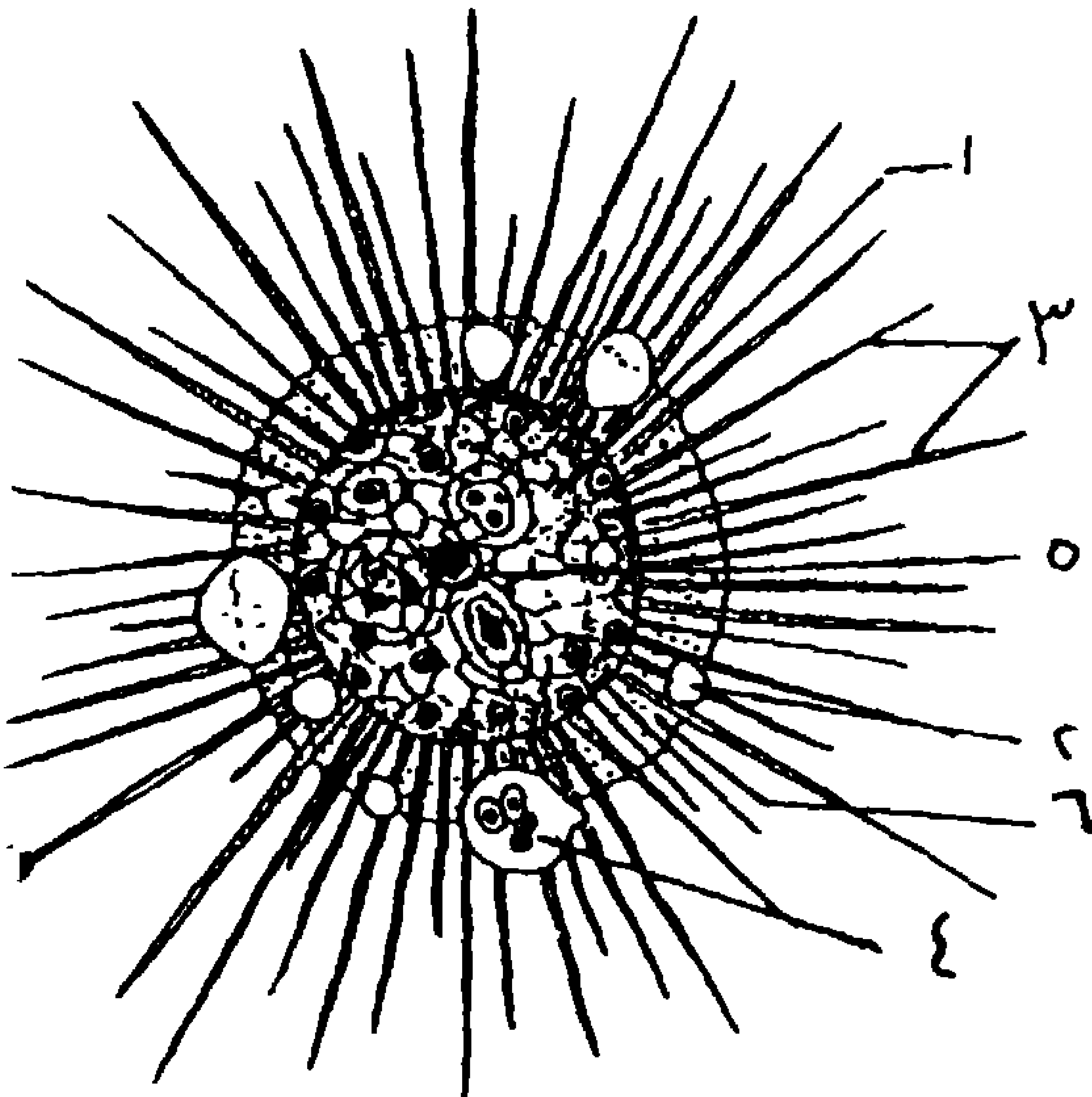


شكل ٦ـ١٠ : الأليفديم من رتبة المثقبات٠

١ـ قشـــرة
٢ـ أقدام كاذبة

٤ـ رتبة الشمسيات Order Helioza

وهي من ذوات الأقدام الكاذبة التى ينقسم جسمها الى جـــزء خارجي حوصلى (القشرة) وهو يحوى الفجوة المنقبضة وتخرج منـــه الأقدام الكاذبة وجزء داخلى (النخاع) يحوى النواه والفراغـــات الغذائية ٠ وللكثير منها هياكل بسيطة أو مركبة ومن أمثلتها أكتينوفريـــس Actinophrys (شكل ٦ـ١١)

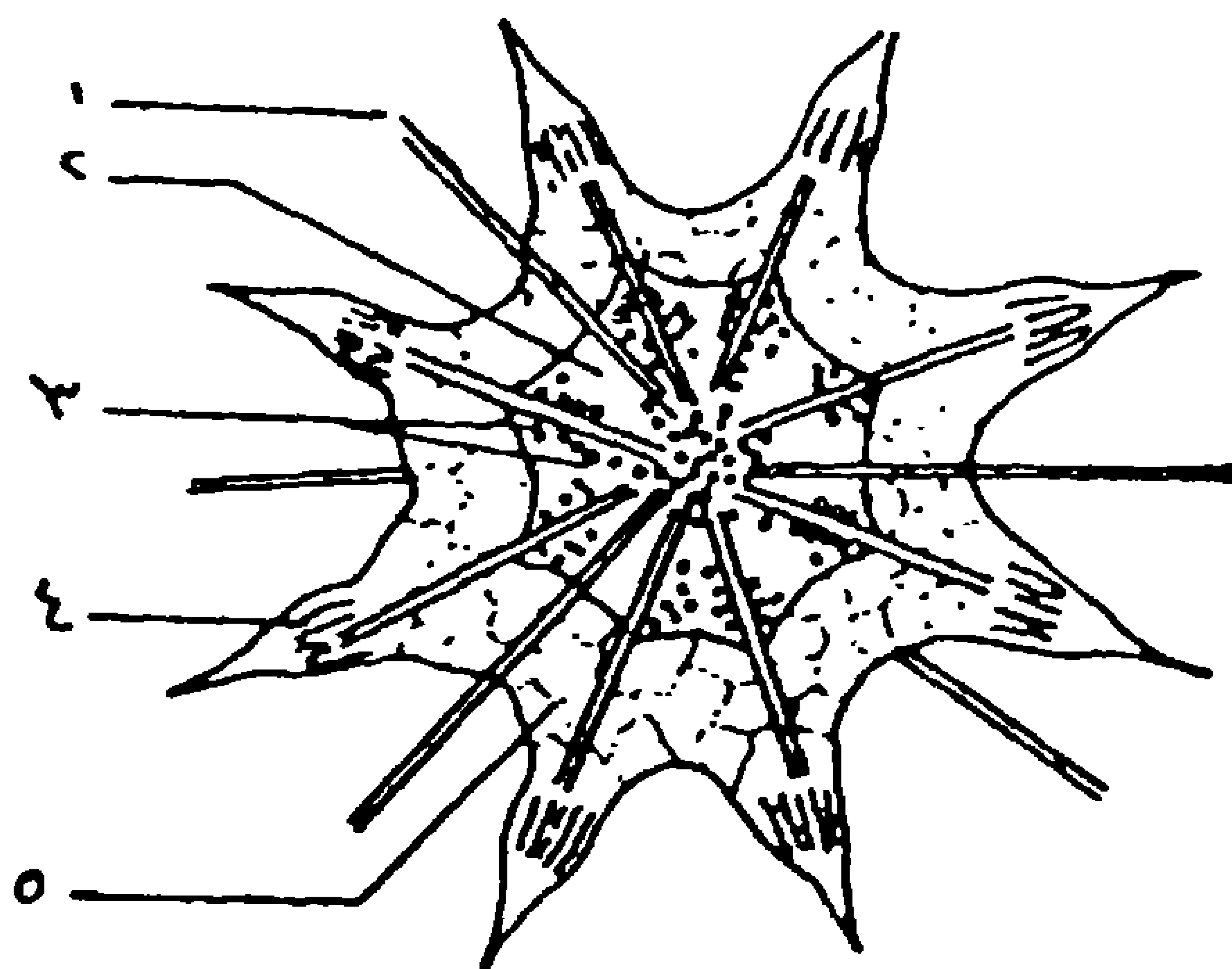


شكل ٦ـ١١ : أكتينوفريس (رتبة الشمسيات) ٠

١ـ اندوبلازم
٢ـ فجوة منقبضة
٣ـ اقدام محورية بها خيوط محورية ٠
٤ـ فجوة غذائية ٠
٥ـ نواة
٦ـ اكتوبلازم ٠

٥ـ رتبة الشعاعيات: Order Radiolaria

وهى من ذوات الأقدام الكاذبة البحرية ، وبها غشاء يسمى الحوصلة المركزية يقسم السيتوبلازم الى منطقتين خارجية وداخلية ، وتنقسم المنطقة الخارجية الى ثلاث مناطق . وتحوى بعض أفراد رتبة الشعاعيات أنواعا من الطحالب التى تتكافل معها . وتتكاثر أغلب الأنواع بتكوين جراثيم صغيرة ذات سياط . ومن أمثلتها الأكانثومترا Acanthomitra (شكل ٦ـ١٢).



شكل ٦ـ١٢ : أكانثومترا (رتبة الشعاعيات)

١ ـ شويكات هيكلية
٢ ـ بروتوبلازم داخلى
٣ ـ طحالب صفراء
٤ ـ خيوط سيتوبلازمية عضلية
٥ ـ بروتوبلازم خارجى

ثالثاً : قسم الجرثوميات Class Sporozoa

وهى البروتوزوا التى تكون الجراثيم Spores وهى تشمل عددا كبيرا من الكائنات على درجة كبيرة من الاختلاف فيما بينها . وليس لها أسواط ـ أو أهداب ـ فيما عدا بعض الجاميطات السوطية ، لذلك فهى غير متحركة أو تتحرك بالزحف Gliding . كل أفرادها متطفلة وتنتقل من عائل الى عائل فى طور يعرف بالطور الجرثومى Spore stage . والجرثومة صغيرة الحجم ويحيط بها غلاف جرثومى Sporocyst سميك ، ولو أن بعضها مثل طفيل الملاريا ليس له هذا الغلاف السميك . وتنتشر الجرثوميات انتشارا واسعا وتصيب العديد من الفقاريات واللافقاريات . ودورة حياة الجرثوميات معقدة لدرجة كبيرة والكثير منها يقضى دورة حياتها فى عائلين احدهما فقارى والآخر لا فقارى بحيث يعمل الحيوان اللافقارى كوسيلة انتقال للطفيل من حيوان فقارى الى حيوان فقارى آخر . ويتميز فى دورة الحياة نوعان من التكاثر هما :

أ ـ التكاثر بالانشقاق : Schizogany وينتج عنه عدة أفراد فى العائل الواحد.

ب ـ التكاثر التزاوجى : Sporogony وينتج عنه تكوين الجراثيم التى تنقل الى العائل الآخر .

تمتاز الجرثوميات بعدم وجود أعضاء للحركة ، كما أنها تتغذى بالامتصاص فلا تبتلع الطعام وليس لها فم أو فتحات اخراجية ، وللجرثوميات نواه واحدة ، ومن أشهر أمثلة الجرثوميات طفيل البلازموديوم Plasmodium المسبب لمرض الملاريا .

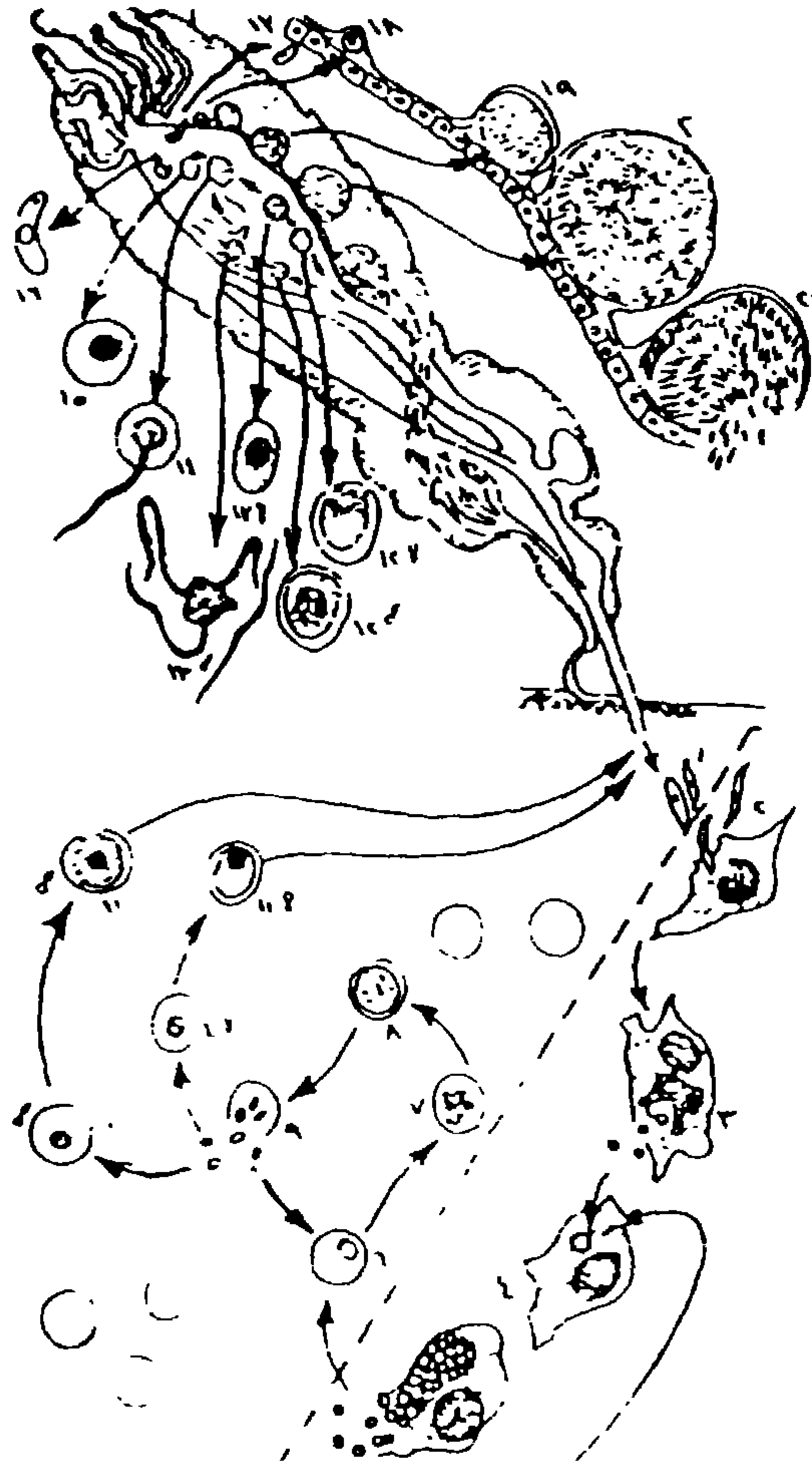
البلازموديوم Plasmodium

يتطفل البلازموديوم على خلايا الدم الحمراء وخلايا الكبد فى الانسان وبعض الفقاريات الأخرى حيث يقضى دورة حياته اللاتزاوجية

، ويكمل دورة حياته فى أنثى بعوضة الأنوفيليس حيث يقضى دورته التزاوجية ، وتتلخص دورة الحياة فى دخول الطفيل أثناء طوره الجرثومى (الأسبوروزيت Sporozoite) فى جسم الحيوان الفقارى مع لعاب البعوض الذى تحقنه فى الجسم أثناء امتصاصها الدم . تصل هذه الأسبوروزيتات مع الدم الى الكبد حيث تستقر هناك وتتحول من الصورة المغزلية الى الصورة الدائرية وتكبر خلايا الطفيل وتنقسم نواتها الى نحو ١٠٠ جزء صغير وتحاط كل نواة بجزء من السيتوبلازم لتكون أفراد صغيرة تعرف باسم الميروزيتات التى تقوم بعضها بمهاجمة خلايا الكبد مرة أخرى حيث تكمن لفترة أخرى . بينما يهاجم بعض الميروزيتات كرات الدم الحمراء ويستقر فيها ويتحول الى جسم كروى يعرف بالطور الغذائى Trophozoite له نواة واحدة ويتغذى على محتويات الكرات الحمراء حتى يكبر ثم ينقسم الى العديد من الميروزيتات فتنفجر كرات الدم الحمراء وتنطلق الميروزيتات ومعها فضلاتها السامة لتهاجم كرات دم جديدة .. وهكذا ..

وعند انفجار كرات الدم الحمراء يصاب الانسان بحمى متقطعة تسبقه رعشة ويعقبها افراز عرق غزير ، ويؤدى هذا المرض الى الاصابة بفقر الدم (الأنيميا) وتضخم فى الطحال .

ويأتى الطور الثانى من دورة الحياة عندما يتغير سلوك بعض الميروزيتات ، فبدلا من تكوين الطور الانقسامى داخل الكرات الحمراء فانها تستدير ويكون نموها بطيئا ثم تغادر الكرات الحمراء وتعرف حينئذ بالخلايا الجاميطية Gametocysts وبعضها يكون مذكر صغير الحجم والبعض الآخر مؤنث كبير الحجم . فاذا امتصت أنثى بعوض الأنوفيليس دم الانسان فى هذا الوقت فان معدتها تهضم جميع الأطوار عدا الخلايا الجاميطية . فتبدأ بذلك الدورة التزاوجية . فتنقسم الخلايا الجاميطية المذكرة لتكون كلا منها من ٤ــ٨ جاميطات احادية المجموعة الكروموسومية ، أما المؤنثة فهى تنقسم انقسام اختزالى ثم تتلاقى الجاميطة المذكرة مع الجاميطة المؤنثة ويتكون الزيجوت الذي يحاط بغلاف رقيق والذي يخترق جدار معدة البعوضة .



شكل ٦ ـ ١٣ : البلازموريوم ـ دورة الحياة

١ ـ أسبوروزيتات في الدم .	٢ ـ أسبوروزويت يدخل خلية كبدية .
٣ ـ تكوين الميروزويتات .	
٤ ، ٥ : تكرار التكاثر العديد .	٦ ـ حيوان منقسم (Schuzont)

٧ : ٩ تكرار التكاثر العديد .

١٠ ، ١١ : تكوين الجاميطات المذكرة الصغيرة والجاميطات المؤنثة الكبيرة

١٢ ، ١٣ : جاميطات مذكرة ومؤنثة .

١٤ : اخصاب الجاميطات المؤنثة .	١٥ ـ الزيجوت .
١٦ : زيجوت متحرك (أووكينيت) .	١٧ ـ أووكينيت مخترق جدار المعدة
١٨ : تكوين الحويصلات الجرثومية .	

١٩ : انتاج الأسبوروزويتات

٢٠ ، ٢١ : انطلاق الأسبوروزويتات وهجرتها الى الغدد اللعابية .

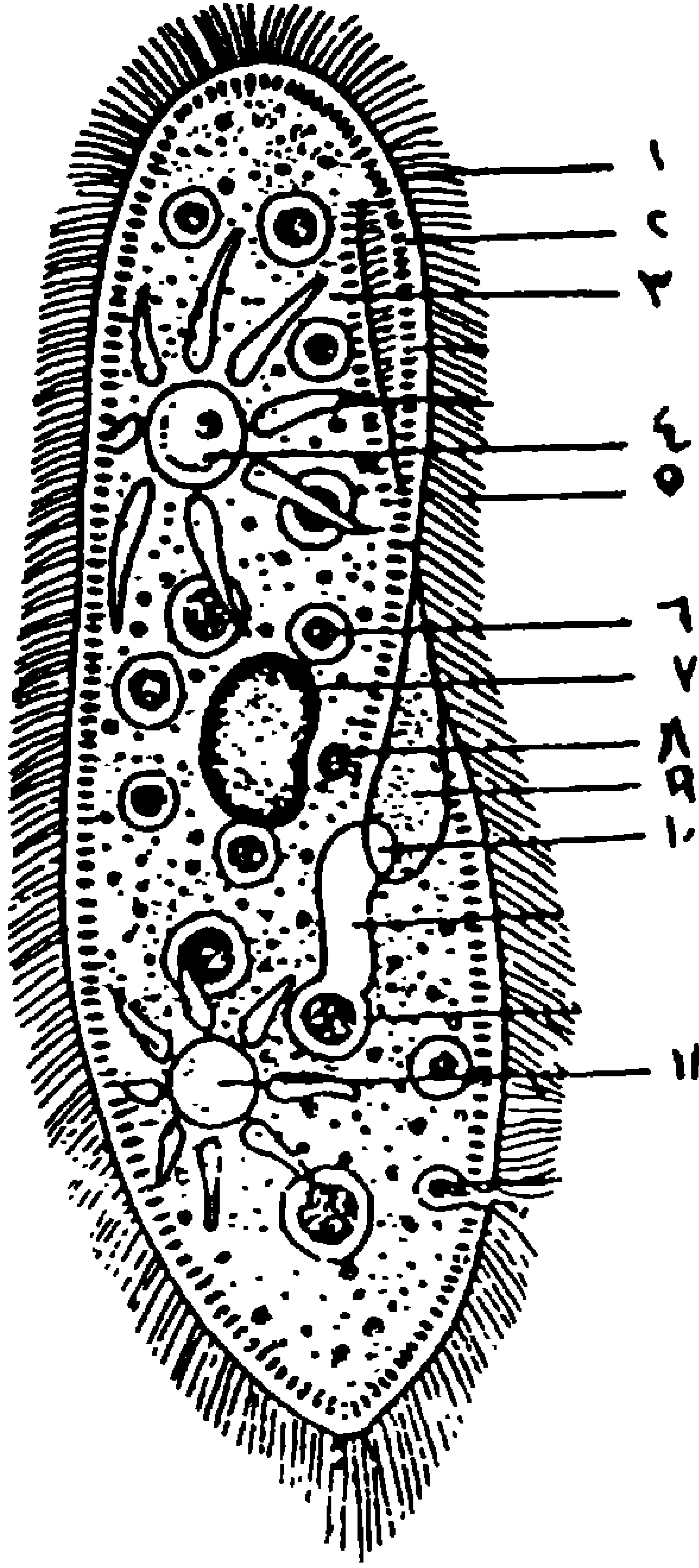
ويسمى عندئذ بالزيجوت المتحرك أو الأووكينت Ooknite ثم يتحوصل خارج الغشاء المخاطى المبطن له ويعرف غشاء الحوصلة باسم Oocyst وينمو هذا الغلاف نموا كبيرا وتنقسم نواة الزيجوت لتكون عددا من الحوصلات الجرثومية يتكون داخل كل منها عدد وفير من الخلايا الجرثومية • ثم ينفجر غلاف الحوصلة وتخرج الخلايا الجرثومية الى التجاويف الدموية بجسم البعوض ومنها الى الغدد اللعابية لتجد طريقها الى عائل آخر عندما تحقن البعوضة لعابها فى جسمه أثناء امتصاص الدم •• وتلاحظ ظاهرة تبادل الأجيال فى الملاريا حيث يحدث التكاثر اللاجنسى فى دم الحيوان الفقرى والتكاثر الجنسى فى جسم البعوضة • (شكل ٦ـ١٣)•

رابعًا : قسم الهدبيات Class Cilliata

وهى البروتوزوا التى تتحرك بالعديد من الأهداب Cilia •
والأهداب عبارة عن زوائد بروتوبلازمية تبرز من الاكتوبلازم ، وقد توجد هذه الأهداب طول مدة حياة الكائن أو أحد أطوار حياته فقط ، ولأغلب الهدبيات نواتان مختلفتان فى الوظيفة والتركيب والحجم.
وتتكاثر الهدبيات بالانقسام الثنائى وتعيش أغلب الهدبيات فى المياه العذبة أو الملحة معيشة حرة Free living ويتطفل بعضها على الانسان أو الحيوانات الفقاريةوالافقاريةتطفلا داخليا أو خارجيا • وقد وضعت هذه الكائنات فى تحت عائلة حاملة الأهداب Subphylum Ciliophora ومن أمثلتها البراميسيوم Paramecium caudatum والتتراهيمنا Tetrahymena .

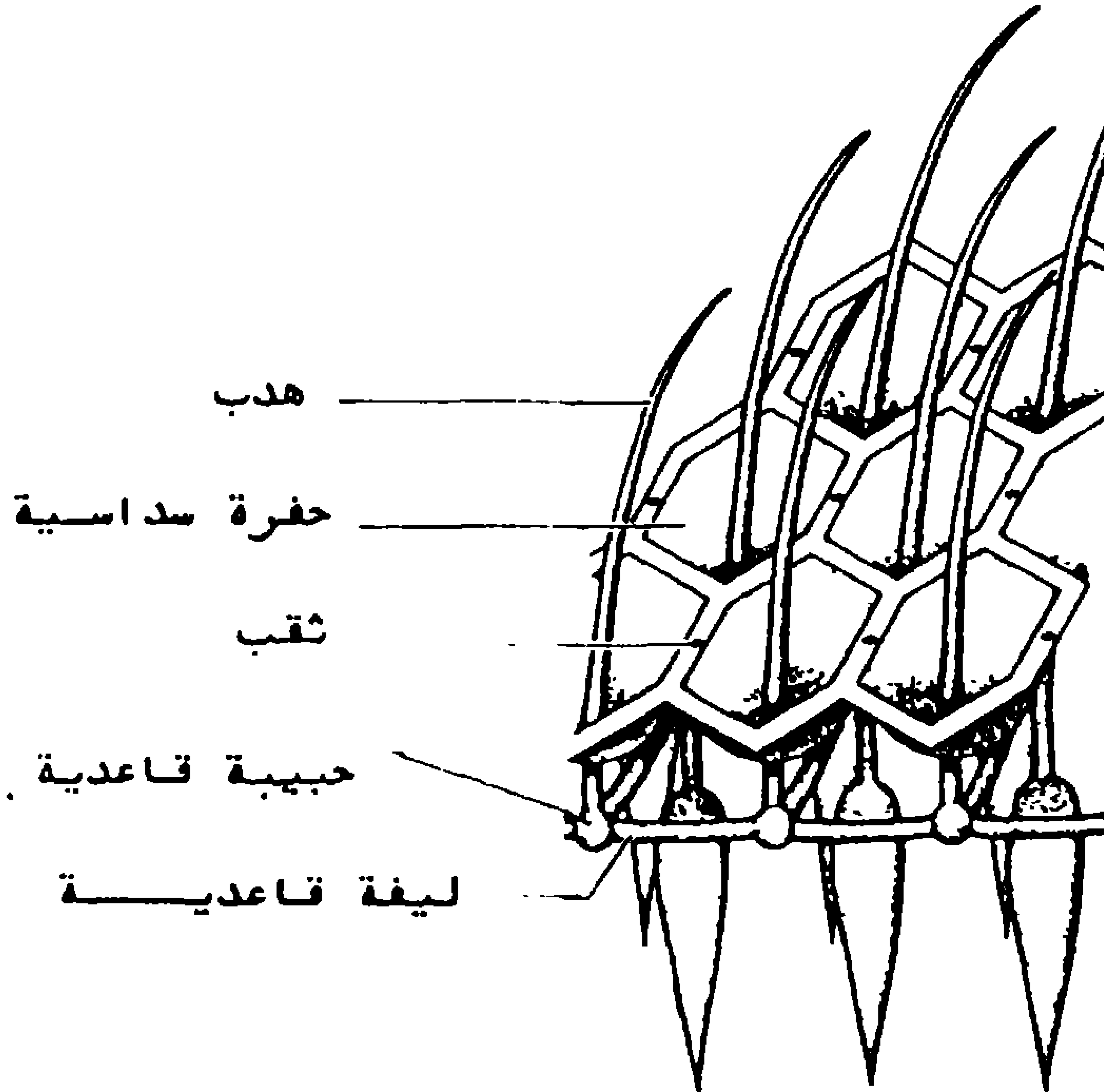
البراميسيوم Paramecium caudatum

وهو كائن حى دقيق يكاد يرى بالعين المجردة ويعيش فى مياه البرك ومجارى المياه العذبة ، وهو سريع الحركة ذو شكل مغزلى • طرفه



شكل ٦ـ١٤ : البرامسيوم

١ ـ جليد
٢ ـ اكتوبلازم ٠
٣ ـ اند وبلازم ٠
٤ ـ فجوة منقبضة
٥ ـ اهداب
٦ ـ غذاء
٧ ـ نواه كبيرة
٨ ـ نواه صغيرة
٩ ـ ميزاب فمي
١٠ ـ قمم الخلية
١١ ـ فجوة منقبضة ٠



شكل ٦ـ١٥ : جزء من سطح البراميسيوم ، مكبر جدا ٠

الخلفى مدبب والأمامى عريض (شكل ٦ ـ ١٤) وله فم فى صورة انخفاض مهدب على السطح البطنى . وتحيط الخلية أهداب منتظمة الطول فى صفوف طولية . ويتميز البروتوبلازم الى اكتوبلازم خارجى شفاف رقيق واندوبلازم داخلى حبيبى . وللبراميسيوم فراغان منقبضان عند طرفى الخلية ، وله أيضا نواتان ، احداهما كبيرة Macronucleus والأخرى صغيرة Micronucleus وكلاهما معلقتان فى السيتوبلازم قرب فتحة الفم . وتشاهد فتحة الاست خلف الطرف الخلفى للفم ، وعند الفحص الدقيق لسطح البراميسيوم (بعد المعالجة بمحلول كحولى ٣٥٪) يشاهد مناطق سداسية (شكل ٦ ـ ١٥) لوجود قنوات دقيقة متقاطعة على سطحه تعطيه هذا الشكل ، ويبرز كل هدب وسط منطقة من هذه المناطق السداسية ، وتكون أهداب الطرف الخلفى للخلية أطول من بقية الأهداب . والهدب يشبه فى تركيبه السوط (فى السوطيات من البروتوزوا) فكل هدب يتكون من امتداد للغشاء السيتوبلازمى محتوى على تسعة أزواج من الأنابيب الرفيعة Microtubules مرتبة فى محيط أسطوانة يوجد فى مركزها زوج عاشر من هذه الأنابيب الرفيعة . وتخرج هذه الأهداب من جسم قاعدى Basal structure فى القشرة يسمى الأجسام الحركية Kinetosome ، وتتصل الأجسام الحركية فى صفوف Rows بواسطة ألياف Fibrils ، وتسمى هذه الصفوف أو الخطوط بال Kinetodesmata وهذه الصفوف أو الخطوط تكون جهاز حركى على درجة عالية من التنظيم ويسمى Kineties.

وهذا الجهاز الحركى Kineties موجود فى جميع الهدبيات حتى عندما تفقد الأهداب Cilia فى بعضها ، ويغطى سطح البراميسيوم بمئات الأهداب مرتبة فى خطوط طولية Kineties تعمل بحركة دورية منظمة . فالأهداب تتحرك وهى مرتخية الى الأمام ثم تضرب الماء بشدة راجعة الى الخلف . وهذه الحركة تدفع البراميسيوم للأمام ، والأهداب لا تعمل سويا فى وقت واحد ، ولكنها تعمل فى موجات تبدأ عند الطرف الأمامى للبراميسيوم وتنتشر نحو الطرف الثانى . كما أن الأهداب تضرب الماء بميل ، وهذا يسبب دوران البراميسيوم حول نفسه

في الوقت الذى يتقدم فيه للأمام مثل فتاحة الفلين ، وقد يعكس البراميسيوم ميل الأهداب فيتحرك للخلف بدلا من الأمام .

التغذية : يتغذى البراميسيوم بالابتلاع Phagotrophic . فيلتهم البكتيريا والكائنات الصغيرة أو أجزاء المواد العضوية الدقيقة ، وذلك بأن تدفعها الأهداب الى الفم Cytosome (وهو فتحة فى مقدمة الخلية وتمتد الى ما بعد منتصف الخلية تقريبا) ويعمل الغشاء المتموج الموجود داخل الفم على ادخال الغذاء مع قليل من الماء بعد ذلك الى البلعوم Cytopharynx حيث يدخل فى البروتوبلازم مكونا فجوة غذائية Food vacuoles . وهذه الفجوات الغذائية تتكون على فترات عند قاعدة البلعوم صفة مستمرة . وتتحرك هذه الفجوات فى البروتوبلازم نتيجة للحركة السيتوبلازمية Cytoplasmic streaming حتى يتم هضم الغذاء وامتصاصه ، أما البقايا الصلبة غير المهضومة فتخرج بانفجار الفراغ الغذائى عند فتحة الاست Cytoproct . ورغم أن البراميسيوم وعدد من الهدبيات مثل التتراهيمنا Tetrahymena تتغذى فى الطبيعة بابتلاع الكائنات الأصغر منها ، الا أنه يمكن تنميتها فى المختبر فى مزارع نقية تحتوى على عناصر مغذية ذائبة . وتحت هذه الظروف فان العناصر المغذية السائلة تؤخذ عن طريق فتحة الفم فى صورة قطيرات صغيرة داخل فجوات غذائية أيضا .

الاخراج : يتم التخلص من ثانى اكسيد الكربون الناتج عن التنفس بالانتشار خلال الغشاء الخلوي للبراميسيوم . ولا شك أن التخلص من ثانى أكسيد الكربون بهذه الطريقة يكون ممكنا فقط فى البروتوزوا وغيرها من الكائنات الحية الدقيقة الصغيرة الحجم حيث تكون النسبة بين السطح والوزن كبيرة جدا ، وتسمح بتبادل الغازات .

أما التخلص من السوائل فيتم بتشغيل الفجوات المنقبضة Contractile vacuole والتى تقوم بضخ الماء الذى يدخل الخلية باستمرار نتيجة وجودها عادة فى وسط ذو ضغط أسموزى أقل من الضغط

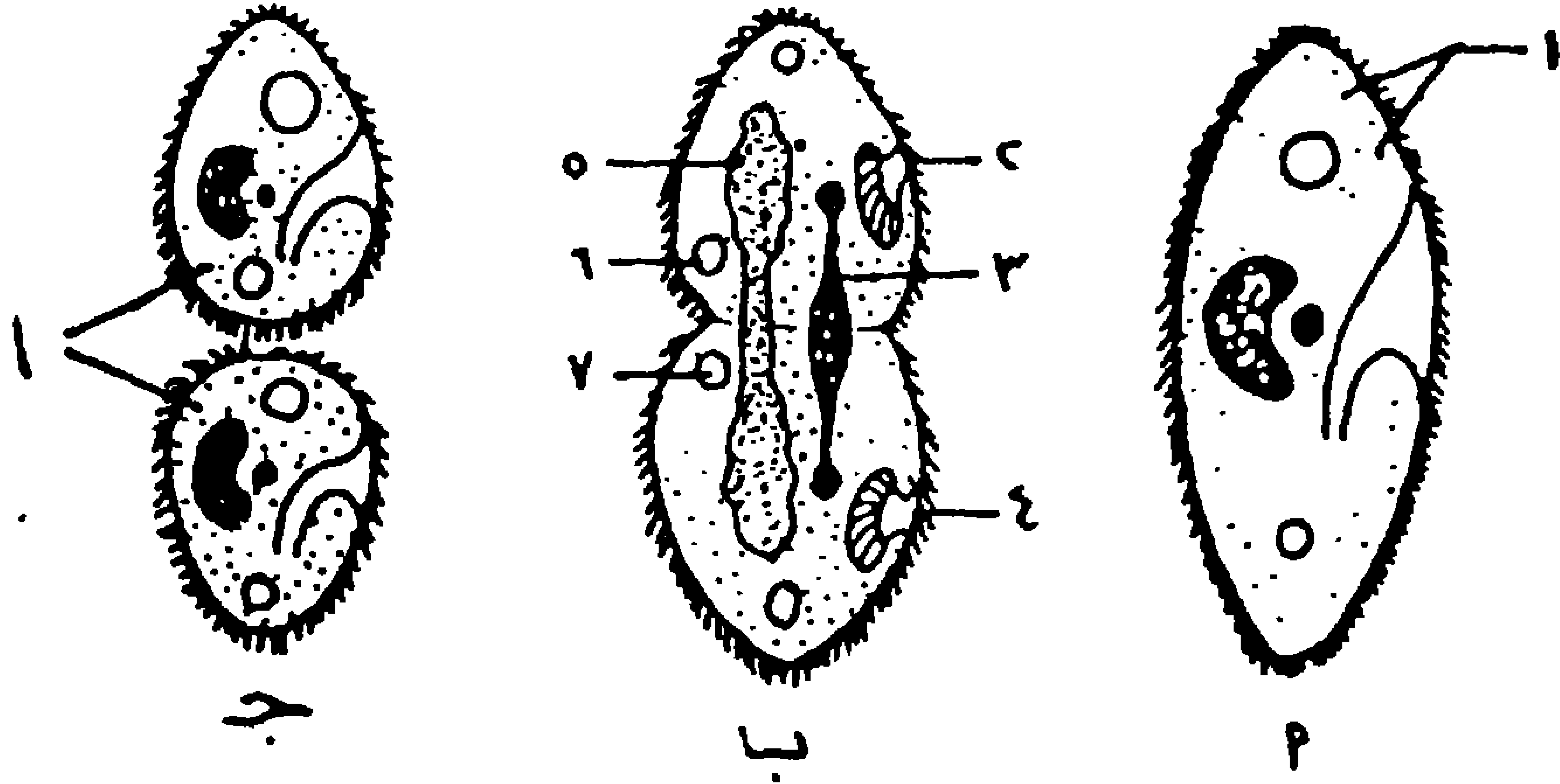
الأسموزى للسيتوبلازم • وتتكون الفجوات المنقبضة بتجمع عدد من الفجوات الصغيرة المغزلية ، وعندما تصل الفجوة المنقبضة الى الحجم الحرج فانها تنفجر طاردة مكوناتها الى الخارج من ثقب فى الجليد Pellicle قرب نهاية الخلية ثم تبدأ فجوة جديدة فى التكون والنمو مرة ثانية •

التكاثر : يتكاثر البراميسيوم باحدي الطرق الآتية :

- الانقسام الثنائى أو الانشطار Binary fission
- التزاوج الجنسى Conjugation
- التزاوج الذاتى Autogamy
- الاختلاط الذاتى Endomixis

فى الانقسام الثنائى تنقسم النواة انقساما غير مباشر وتتجه النواتان الى طرفى الخلية ثم يتكون فراغان منقبضان جديدان ويمتد البلعوم ويتبع ذلك ظهور حز أو اختناق فى الوسط ينتهى بانقسام البراميسيوم الى خليتين (شكل ٦ ـ ١٦) •

أما فى التزاوج الجنسى فيتم بالتصاق خليتين عن سطحيهما البطنيين ويحدث اتصال بروتوبلازمى بينهما وتتلاشى النواة الكبيرة فى كل منهما ، أما النواة الصغيرة فتنقسم مرتين متتاليتين لتكوين ٤ أنوية فى كل خلية • تتلاشى ثلاث من تلك الأنوية وتنقسم الرابعة انقساما واحدا لتكون نواة مذكرة ونواة مؤنثة ، وتمر النواة المذكرة من كل خلية الى الخلية الأخرى لتخصب النواة المؤنثة فيها ثم تنفصل الخليتان المتزاوجتان • ثم تنقسم نواة الزيجوت فى كل فرد بعد ذلك ثلاث مرات لتكون ثمانية أنوية تنمو ٤ منها لتصبح أنوية كبيرة وتكون الأربعة الأخرى أنوية صغيرة ثم ينقسم كل فرد مرتين متتاليتين لينتج ٤ براميسيومات لكل منها نواة كبيرة ونواة صغيرة • (شكل ٦ ـ ١٧) •



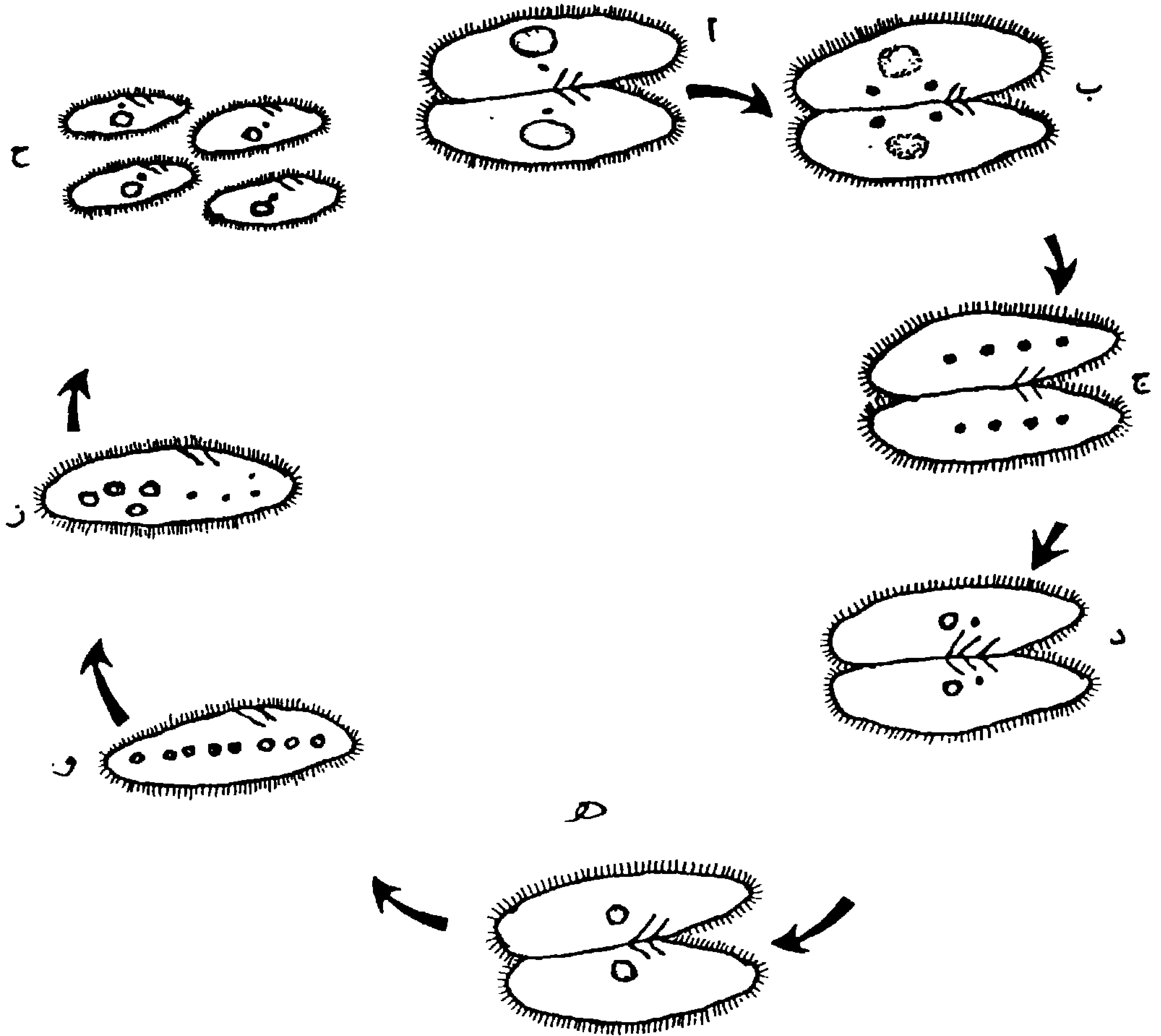
شكل ٦ـ١٦ : البراميسيوم ـ الانقسام الثنائى

أـ الخلية مستعدة للانقسام ب ـ بداية الانقسام
جـ ـ خليتان

١ـ السيتوبلازم ٢ـ حول فم
٣ـ نواة صغيرة ٤ـ حول فم جديد
٥ـ نواة كبيرة ٦ـ فجوة منقبضة قديمة ٠
٧ـ فجوة منقبضة جديدة ٠

أما التزاوج الذاتى فيحدث فى بعض أنواع البراميسيوم التى تحتوي على نواة كبيرة واحدة ونواتين صغيرتين ٠ فتنقسم النواتان الصغيرتان مرتين لتكون ثمانية أنوية تتلاشى بعدها النواة الكبيرة وستة من الأنوية الصغيرة وتبقى نواتان صغيرتان تمثل احداهما النواة المذكرة والأخري النواة المؤنثة فتندمج النواتان لتكوين الزيجوت٠ فتنقسم نواة الزيجوت مرتين لتكوين ٤ أنوية ، اثنان كبيرتان واثنان صغيرتان ٠ ثم تنقسم كل نواة صغيرة مرة ثانية وينقسم فى الوقت نفسه البراميسيوم لتكوين خليتين كل منهما يحتوي على نواة كبيرة ونواتين صغيرتين (شكل ٦ـ١٨) ٠

ويتم الاختلاط الذاتى باختفاء النواة الكبيرة ثم تنقسم النواتان الصغيرتان مرتين متتاليتين فيتكون ٨ أنوية تتلاشى ست منها ثم ينقسم



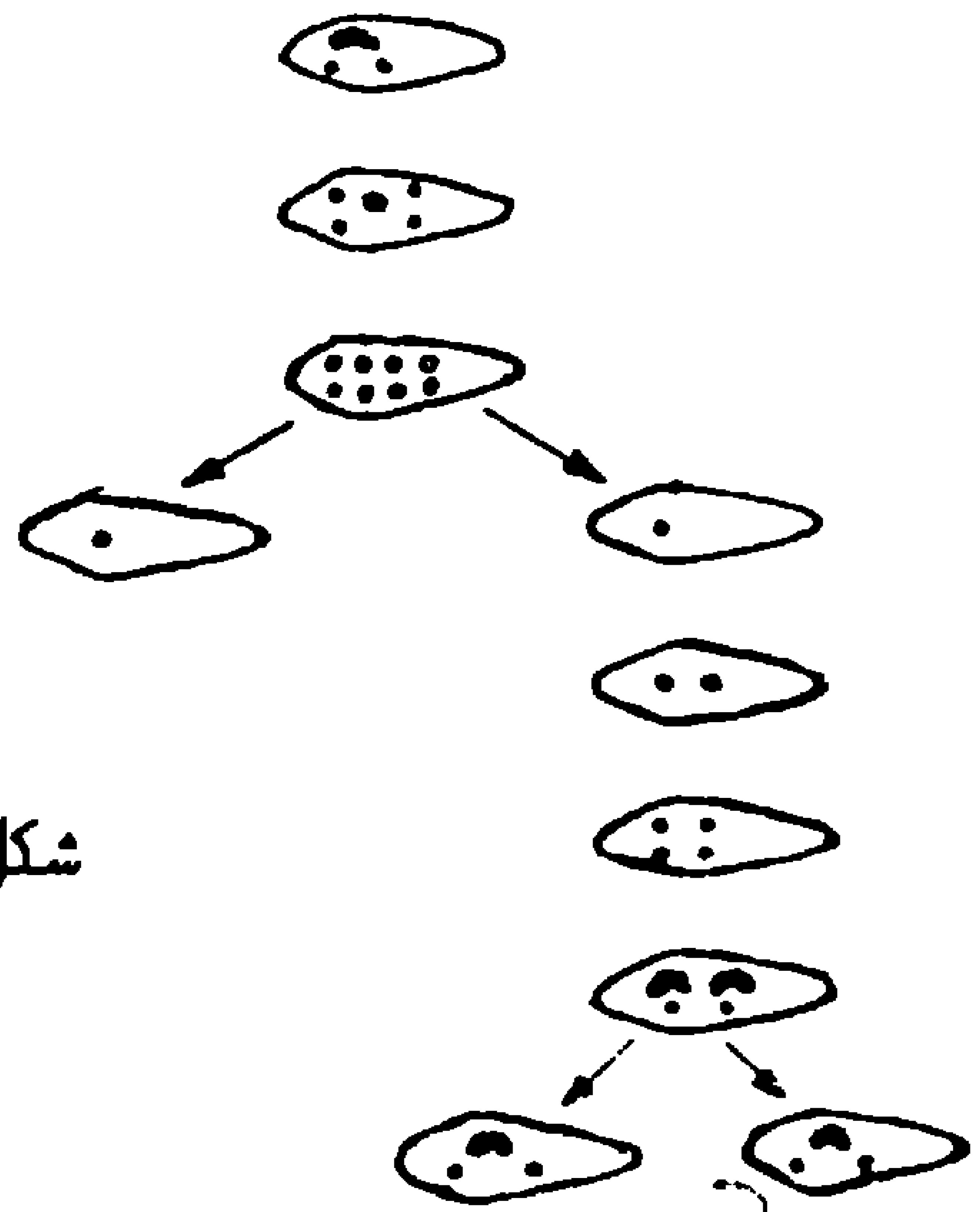
شكل ٦ ـ ١٧ : التزاوج الجنسى فى البراميسيوم

أ ـ تلتصق خليتين على سطحيهما البطنيين ويحدث اتصال بروتوبلازمى
ب ـ تتلاشى النواة الكبيرة فى كل خلية وتنقسم النواة الصغيرة لتنتج نواتين .
جـ ـ تنقسم النواتين الناتجتين عن الانقسام الأول لتعطى أربع نوايا فى كل خلية .
د ـ تتلاشى ثلاث من تلك الأنوية فى كل خلية وتنقسم الرابعة لتعطى نواة مذكرة ونواة مؤنثة .
هـ ـ تمر النواة المذكرة من كل خلية الى الخلية الأخري لتخصب النواة المؤنثة فيها ثم تنفصل الخليتان .
و ـ تنقسم نواة الزيجوت فى كل خلية ثلاث مرات لتعطى ثمان أنوية .
ز ـ تنمو أربع أنوية منها لتكون أنوية كبيرة ، بينما تبقى الأربعة الأخري أنوية صغيرة .
ح ـ ينقسم كل فرد انقسامين متتاليين ليعطى أربع أفراد جدد يحتوي كل منها على نواة كبيرة ونواة صغيرة .

البراميسيوم بالانشطار ، وبذلك يكون في كل خلية نواة واحدة صغيرة تنقسم مرتين متتاليتين فينتج في كل خلية ٤ أنوية يكبر منها اثنان في الحجم وتبقى الاثنتان الأخرتين صغيرتين ثم تنقسم النواتان الصغيرتان وتنقسم كل خلية لتعطى خليتين تحتوي كل منها على نواة كبيرة ونواتين صغيرتين (شكل ٦ـ١٩) .



شكل ٦ـ١٨ : البراميسيوم ـ التزاوج الذاتى



شكل ٦ـ١٩ : البراميسوم ـ الاختلاط الذاتى

الفصل السابع

الفطريات Fungi

الفطريات مثل البروتوزوا لا تستطيع القيام بالتمثيل الضوئي Photosynthetic وهناك بعض الفطريات الأولية المائية تشبه - لدرجة كبيرة - البروتوزوا السوطية (السوطيات) Flagellate Protozoa كما أن الفطريات تشبه الطحالب فى احتوائها على جدر خلوية ، ولكن تختلف عنها فى عدم القدرة على التمثيل الضوئى . ومع ذلك فهناك شبه اتفاق عام بين علماء الأحياء الدقيقة Microbiologists على الخطوط الفاصلة لهذه الكائنات (الفطريات) عن غيرها من البروتستا Protists (الطحالب والبروتوزوا) وان كانت الفطريات اللزجة Slime mold غير محددة الانتماء على وجه التأكيد فى الوقت الحالى فهى تشبه البروتوزوا فى بعض أطوار حياتها وتشبه الفطريات فى أطوار أخرى من حياتها . وسنتعرض للفطريات اللزجة Slime mold فى نهاية هذا الفصل ولو أنها ليست فطريات حقيقية True fungi. وينظر الكثير من العلماء الى الفطريات اللزجة على أنها الحلقة الوسطية لظهور الفطريات الحقيقية True fungi من البروتوزوا ، الا أن بعض العلماء يعتقدون أن الفطريات نشأت من الطحالب مرتكزين فى اعتقادهم على التشابه الكبير بين الفطريات والطحالب ، فالجدر الخلوية لبعض الفطريات سليلوزى مثل الجدر الخلوية للطحالب كما أن الفطريات أجسامها الخضرية خيطية مثل الأجسام الخضرية لكثير من الطحالب. ويساند الطائفة الأخيرة من العلماء التجارب المعملية التى أجريت على بعض الطحالب فى المعامل محولة اياها الى كائنات تشبه الفطريات الى درجة كبيرة . فعند معاملة طحلب اليوجلينا Euglena بالمضاد الحيوى استربتومايسين أو بجرعات منخفضة من الأشعة فوق البنفسجية فان هذا الطحلب يفقد القدرة على بناء الكلوروفيل ويصبح طحلب عديم اللون ويشبه بذلك الفطريات الى درجة كبيرة .. كما توجد تشابهات أخرى بين الطحالب والفطريات مثل التشابه بين طحلب الفوشيريا Voucheria وفطر البوجو Albugo من حيث طريقتى التكاثر اللاجنسى والجنسى

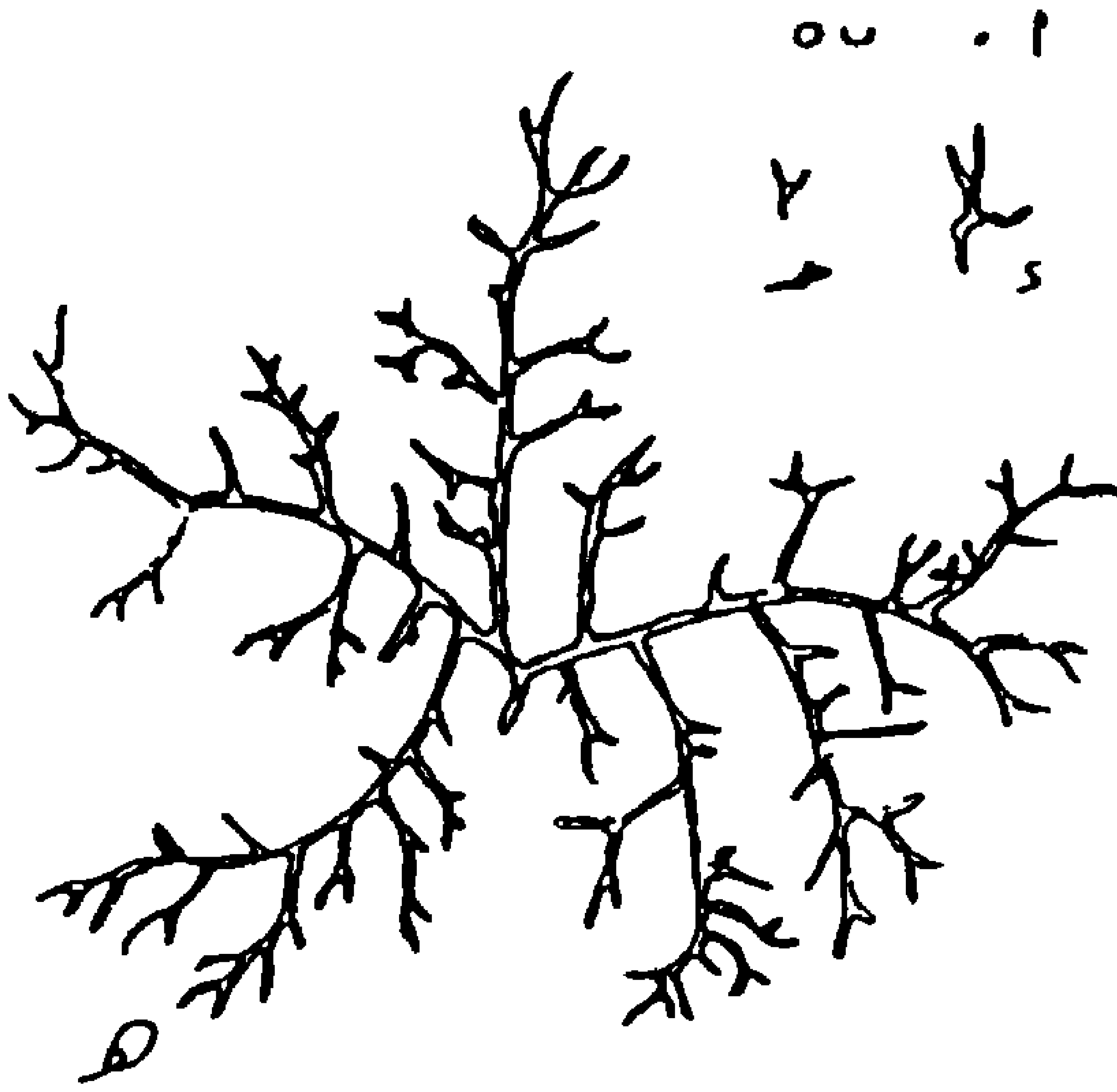
والثالوس Thallus غير المقسم وغيرها ...

الصفات العامة للفطريات General features of fungi

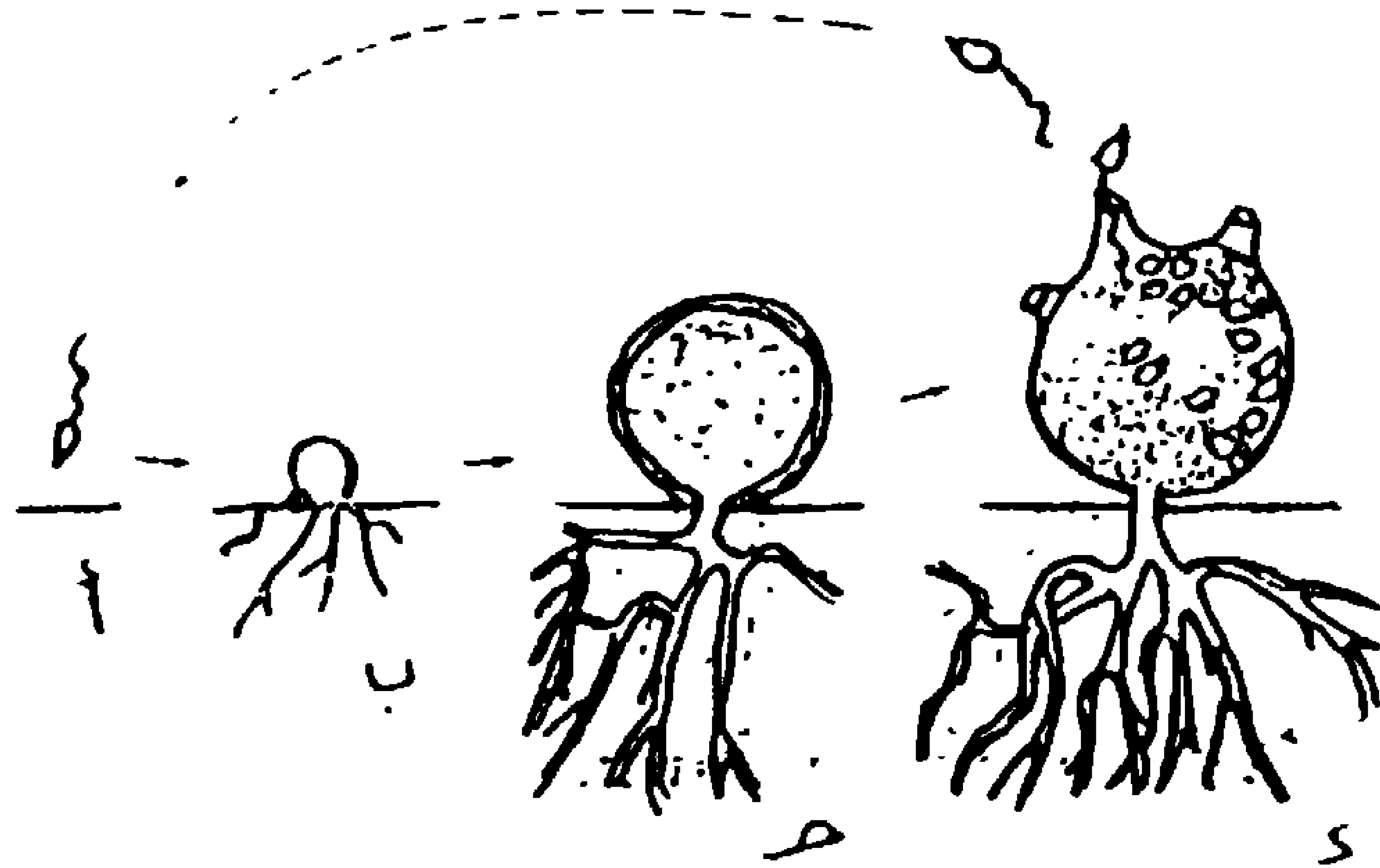
معظم الفطريات عديدة الأنوية Coenocytic ولها تركيب خضري يعرف بالميسليوم Mycelium . ويتكون الميسليوم من كتلة بروتوبلازمية عديدة الأنوية محاطة بنظام متفرع من الأنابيب الصلبة ذات قطر متماثل الى درجة كبيرة . وتمثل هذه الأنابيب نظام حماية لهذه الكتلة السيتوبلازمية مثلها في ذلك مثل الجدار الخلوي للكائنات وحيدة الخلية ذات الجدار الخلوي . ويتكون هذا الميسليوم نتيجة لانبات ونمو خلية تكاثرية أو جرثومية Spore . فبعد انبات الجرثومة تتكون أنبوبة خيطية طويلة تسمى الهيفا Hypha وتتفرع هذه الهيفا عدة تفرعات نامية لتكون العديد من الهيفات Hyphae (شكل ٧ـ١) وتسمى كتلة الهيفات هذه بالميسليوم ، والميسليوم هو الثالوس Thallus أو النمو الخضري Vegetative structure الخاص بالفطريات بصفة عامة وعندما ينمو الميسليوم يختفي السيتوبلازم من الأجزاء القديمة المركزية منه . ويستمر الميسليوم أحيانا في النمو ـ طالما توفرت العناصر الغذائية والظروف البيئية المناسبة ـ لمدى غير محدود ، وقد يصل قطر الميسليوم الواحد في بعض أفراد الفطريات البازيدية الى خمسون قدما .

من الصفات المميزة للفطريات أن النمو يتم من أطراف الهيفات ، لذلك فان السيتوبلازم يتحرك من الأجزاء المركزية القديمة في اتجاه أطراف الهيفات النامية .

تتكاثر معظم الفطريات لا جنسيا بتكوين جراثيم وحيدة النواة أو متعددة الأنوية وتتكون هذه الجراثيم ـ عادة ـ من أطراف الهيفات. وفي الفطريات الراقية كالفطريات الأسكية والبازيدية تتميز الجراثيم والميسليوم بعدم القدرة على الحركة . رغم ان المكونات الداخلية للسيتوبلازم تظهر حركة سيتوبلازمية Cytoplasmic streaming ولكن



شكل ٧ ـ ١ : المراحل المتتالية لنمو الميسليوم من خلية تكاثرية أو جرثومة كونيدية



شكل ٧ ـ ٢ : دورة حياة أحد فطريات Chytrids٠ لاحظ أن الجرثومة الحيوانية

أ ـ تقع على سطح بيئة مناسبة لتنبت٠

بـ ـ ويتكون أشباه جذور متفرعة لتثبيت الفطر بالبيئة و لامتصاص العناصر الغذائية ويؤدى استمرار النمو٠

جـ ـ الى تكوين أكياس جرثومية Zoosporangium

د ـ ينفتح الكيس الجرثومي لتنطلق منه جراثيم حيوانية سابحة Zoospores تتحرك بواسطة أسواط لتعيد دورة الحياة مرة ثانية٠

هذه الحركة السيتوبلازمية لا يمكن ترجمتها لحركة فعلية للميسليوم على الأسطح لوجود الجدر الخلوية محيطة بالسيتوبلازم احاطة تامة • وأبسط تعريف للميسليوم هو أنه كتل سيتوبلازمية متعددة الأنوية تتحرك داخل نظام متفرع من الأنابيب•

وحيث أن الميسليوم قادر على النمو غير المحدود فهو أحيانا يصل الى أحجام كبيرة جدا ترى بالعين المجردة • ولكن ذلك لا يحدث في الطبيعة الا نادرا نظرا لأن الفطريات تنمو عادة مدفونة في التربة أو أى بيئات أخرى معتمة غير شفافة •

يكون عدد كبير من الفطريات (فطريات عيش الغراب Mushrooms) أجسام ثمرية حاملة للجراثيم ظاهرة فوق سطح التربة • وهذه التركيبات عرفت منذ قديم الزمن وحتى قبل بداية علم الأحياء الدقيقة Microbiology • ورغم عدم المعرفة التامة بهذه التركيبات الا أنه مما لا شك فيه أن هذه التركيبات الثمرية لفطريات عيش الغراب كانت أحد الأسباب الهامة لوضع الفطريات ضمن المملكة النباتية بالرغم من عدم قدرة الفطريات على التمثيل الضوئى •

وحيث أن الفطريات محاطة بجدر خلوية فانها غير قادرة على الحركة رغم الحركة السيتوبلازمية الواضحة فيها • وهى غير قادرة على ابتلاع الكائنات الدقيقة أيضا • لذلك فمعظم الفطريات تعيش معيشة حرة Free living فى التربة أو الماء • وتحصل على الطاقة بتخمير أو أكسدة المواد العضوية الموجودة فى البيئة التى تعيش فيها وتتطفل بعض الفطريات على النباتات وعلى الحيوانات• قليل من الفطريات الأرضية مفترس Predators نتيجة قدرتها على تكوين مصايد خاصة بواسطة هيفات متخصصة لصيد البروتوزوا واللافقاريات الصغيرة وقتلها والتغذية عليها • فبعد موت الضحية يهاجم الفطر جسم الحيوان بنمو الهيفات فيه وامتصاص العناصر المغذية منه •

تقسيم الفطريات

تشمل الفطريات الحقيقية ثلاث مجموعات أساسية وهى :

١- الفطريات الدنيئة (أو الفطريات الأولية Primitive fungi) :
وهى تشمل الفطريات الشبيهة بالبروتوزوا وتسمى الفطريات الطحلبية Phycomycetes ويكون الميسليوم فيها غير مقسم بجدر عرضية وتتكاثر جنسيا بالجراثيم الزيجية أو الجراثيم البيضية .

٢- الفطريات الراقية Higher fungi
ويكون الميسليوم فيها مقسما بجدر عرضية ، وتقسم الى مجموعتين أساسيتين حسب طريقة تكوين الجراثيم الجنسية :

أ- الفطريات الأسكية Ascomycetes : وهى تتكاثر جنسيا بالجراثيم الأسكية Ascospores التى تتكون داخليا فى أكياس أسكية .

ب- الفطريات البازيدية Basidiospores : وهى تتكاثر جنسيا بالجراثيم البازيدية Basidiospores التى تتكون خارجيا على حوامل بازيدية .

٣- الفطريات الناقصة Imperfect Fungi : وهى تلك الفطريات التى لم يكتشف فيها طور جنسى ، وبذلك أصبح من غير الممكن وضعها فى المكان المناسب من الأقسام السابقة . وكلما اكتشف الطور الجنسى لأحدها فانه ينقل من هذا القسم الى مكانه المناسب وتسمى الفطريات الناقصة باسم Deutromycetes .

أولاً : الفطريات الدنيئة Primitive fungi

بالرغم من أن التربة هى أكثر الأماكن التى تنمو فيها الفطريات بصفة عامة الا أن عددا من الفطريات الأولية تنمو فى المياه . وتعرف مثل هذه الفطريات باسم الفطريات المائية Water molds أو الفطريات الطحلبية المائية Aquatic Phycomycetes وهى أكثر الفطريات شبهها

بالبروتوزوا من حيث تكوينها جراثيما متحركة بالأسواط ، وتشبه في ذلك السوطيات من البروتوزوا ، وعلاوة على هذه الفطريات الطحلبية المائية Aquatic Phycomycetes فانه يوجد عدد آخر من الفطريات الطحلبية وهي الفطريات الطحلبية الأرضية Terrestrial Phycomycetes وهي تبتعد عن البروتوزوا وتشبه الفطريات الراقية ٠

أ ـ الفطريات الطحلبية المائية : Aquatic Phycomycetes

تعيش معظمها معيشة حرة على المواد الحيوانية والنباتية المتحللة في البحيرات والمستنقعات ، وبعضها متطفل يهاجم الطحالب أو البروتوزوا.

وكما سبق الذكر فان هذه الفطريات هي أقرب الفطريات شبها بالبروتوزوا فهي تكون جراثيم متحركة أو جاميطات متحركة بواسطة أسواط ، والصور البسيطة من هذه الفطريات المائية لا تكون ميسليوم مثل ميسليوم الفطريات الراقية والفطريات المعروفة باسم Chytrids (شكل ٧ـ٢) هي أكثر الأمثلة وضوحا على ما ذكر ٠ فتبدأ دورة الحياة بسقوط جرثومة حيوانية سابحة Zoospore على سطح بيئة مناسبة ، فتفقد سوطها وتنبت مكونة أشباه جذور Rhizoids تثبت جسم الفطر بالسطح الذى سقطت عليه وتمتص العناصر المغذية من هذا السطح لينمو الفطر مكونا جسما كرويا ذو جدار سميك يكبر في الحجم يسمى الكيس الجرثومي الأسبورانجي Zoosporangium وتنقسم نواته العديد من المرات وتحاط كل نواة بكتلة سيتوبلازمية ثم تغلف بجدار صلب مكونة جراثيم حيوانية سابحة Zoospores مزودة بأسواط تسمح لها بالحركة في السوائل عند انفجار الكيس الجرثومي الأسبورانجي ٠ وتسبح هذه الجراثيم حتى تصل الى سطح آخر مناسب لنموها فتستقر وتعيد دورة الحياة مرة ثانية ٠

وتختلف الفطريات الطحلبية المائية عن بعضها اختلافات جوهرية في دورة الحياة وميكانيكية التكاثر ، ويمكن توضيح ذلك بمقارنة ال Chytrid السابق الذكر بفطر طحلبي مائي آخر وهو فطر اللوميسيز Allomyces

تتضح فى هذا الفطر (اللوميسيز Allomyces) ظاهرة تبادل الأجيال النادرة الحدوث فى الفطريات فيتبادل الثالوس الجاميطى Thallus وهو أحادى الأساس (المجموعة) الكروموسومى (الصبغى) Haploid مع الثالوس الجرثومى Sporophyte or sporothallus وهو ثنائى الأساس الكروموسومى Diploid . والثالوس الجرثومى عند نضجه يشبه شجرة مجهرية مثبتة فى السطح بأشباه جذور Rhizoids تحمل هذه الشجرة نوعين من الأكياس الجرثومية أحدهما ذو جدر رقيقة وناعمة الملمس عديمة اللون وتسمى Mitosporangia والثانى ذو جدر سميكة محببة داكنة اللون وتسمى Meiosporangia . وعند النضج ينتج كلا النوعين من الأكياس الجرثومية جراثيما متحركة بواسطة أسواط . والجراثيم التى تخرج من أكياس Mitosporangia تسمى Mitospores وهى ثنائية الأساس الكروموسومى Diploid وعندما تنبت تكون الثالوس الجرثومى Sporothallus والجراثيم التى تنتج من أكياس Meiosporangia تسمى Meiospores وتتكون بعد حدوث خطوة انقسام اختزالى ، ولذلك فهى أحادية الأساس الكروموسومى ، وعندما تنبت تكون الثالوس الجاميطى Gametothallus . والثالوس الجاميطى يشبه الثالوس الجرثومى ، الا أنه يحمل أكياسا جاميطية ذكرية Male gametangium طرفية ويتكون أسفلها أكياس جاميطية مؤنثة Female gametangium ويخرج من الأكياس الجاميطية جاميطات Gametes متحركة . وتكون الجاميطات المؤنثة عادة أكبر حجما من الجاميطات المذكرة . تتزاوج الجاميطات وتتكون زيجوتات سابحة مزدوجة الأسواط لا تلبث أن تستريح وتفقد الأسواط وتنبت معطية ثالوسات جرثومية وتعيد دورة الحياة (شكل ٧-٣) .

ب - الفطريات الطحلبية الأرضية : Terresterial Phycomycetes

تختلف الفطريات الطحلبية الأرضية عن الفطريات الطحلبية المائية فى أن الأولى عادة تنتج خلايا تكاثرية (جراثيم) غير مزودة بأسواط للحركة ، ولذلك فمثل هذه الجراثيم تكون غير متحركة ، وهذه الصفة (غياب الحركة) تشترك فيها الفطريات الطحلبية الأرضية مع الفطريات

الراقية (التابعة للفطريات الأسكية والفطريات البازيدية) . وغياب الحركة فى الفطريات الراقية يمكن فهمه على اعتبار أن هذه الفطريات لا تعيش فى الماء وبالتالى فان الأسواط التى تمكن الجراثيم من السباحة لا حاجة لها فى هذه الفطريات والتى تعيش معيشة أرضية وتنتشر جراثيمها بالهواء من مكان لآخر . وكمثال للفطريات الطحلبية الأرضية نناقش هنا الفطر Rhizobus .

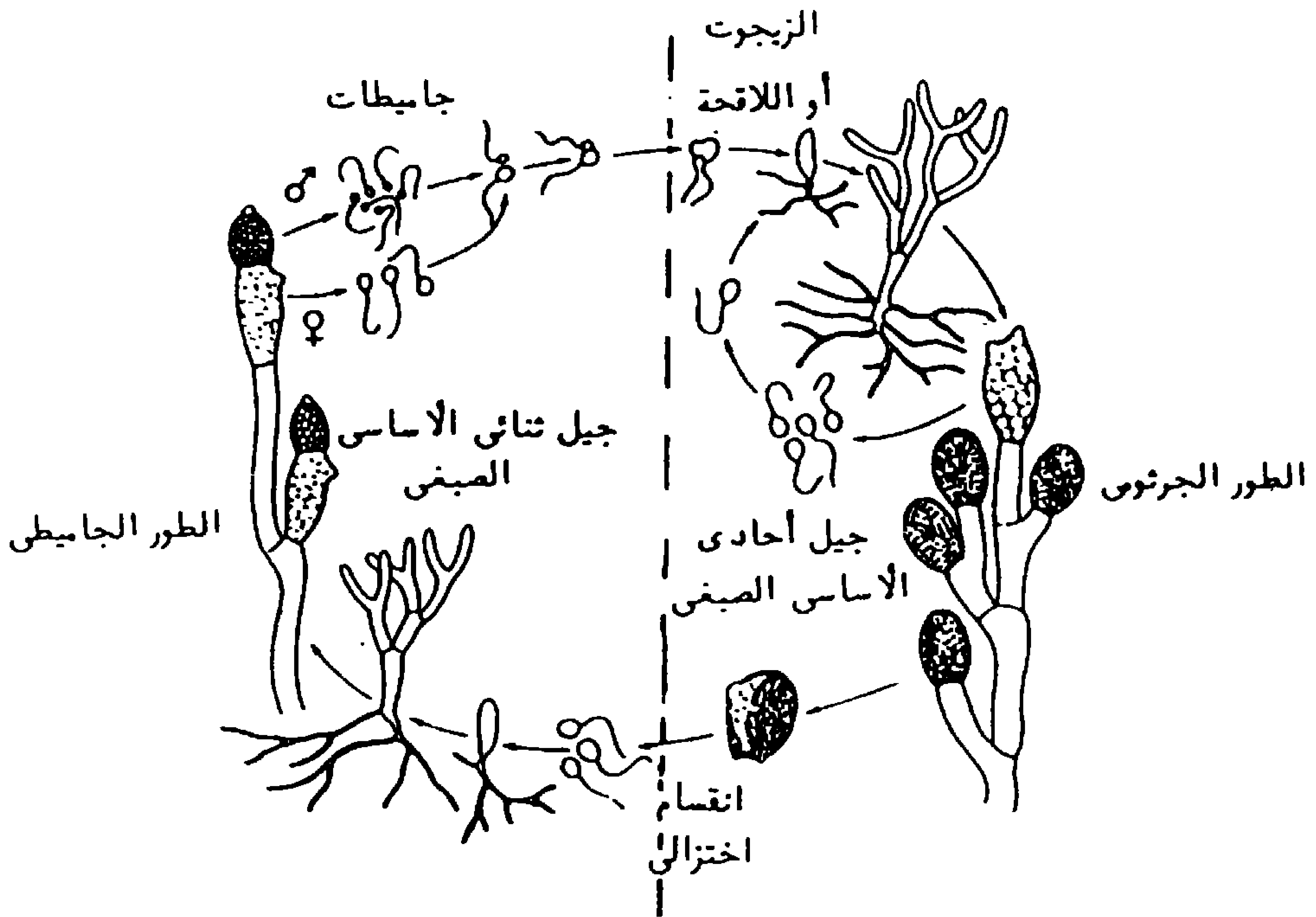
الفطر ريزوبس Rhizobus

يعيش هذا الفطر رميا فى التربة كما يسبب عفنا لكثير من الفواكه والخضر المخزنة مثل العنب والفراولة والبطاطا ، كما يسبب عفنا جافا للوز القطن . ويسبب أضرار لكثير من الأغذية . وينمو على الخبز مكونا عفنا أسود ، والميسليوم يتميز بوجود هيفات خاصة تسمى أشباه الجذور Rhizoids وهى تثبت الفطر بالبيئة وتمتص الغذاء من البيئة وتخرج أشباه الجذور هذه من هيفات مدادة Stolons (شكل ٧-٤أ) تنمو أفقيا على سطح البيئة ويخرج من الهيفات المدادة فى مناطق أشباه الجذور نموات هيفية قائمة هى حوامل الأكياس الأسبورانجية Sporangi-ophore . وهذه الحوامل تحمل فى أطرافها الأكياس الأسبورانجية Sporangia ومفردها Sporangium وهى كروية الشكل عادة ، ويتكون بداخلها جراثيم لا جنسية تسمى الجراثيم الأسبورانجية Sporangiospores

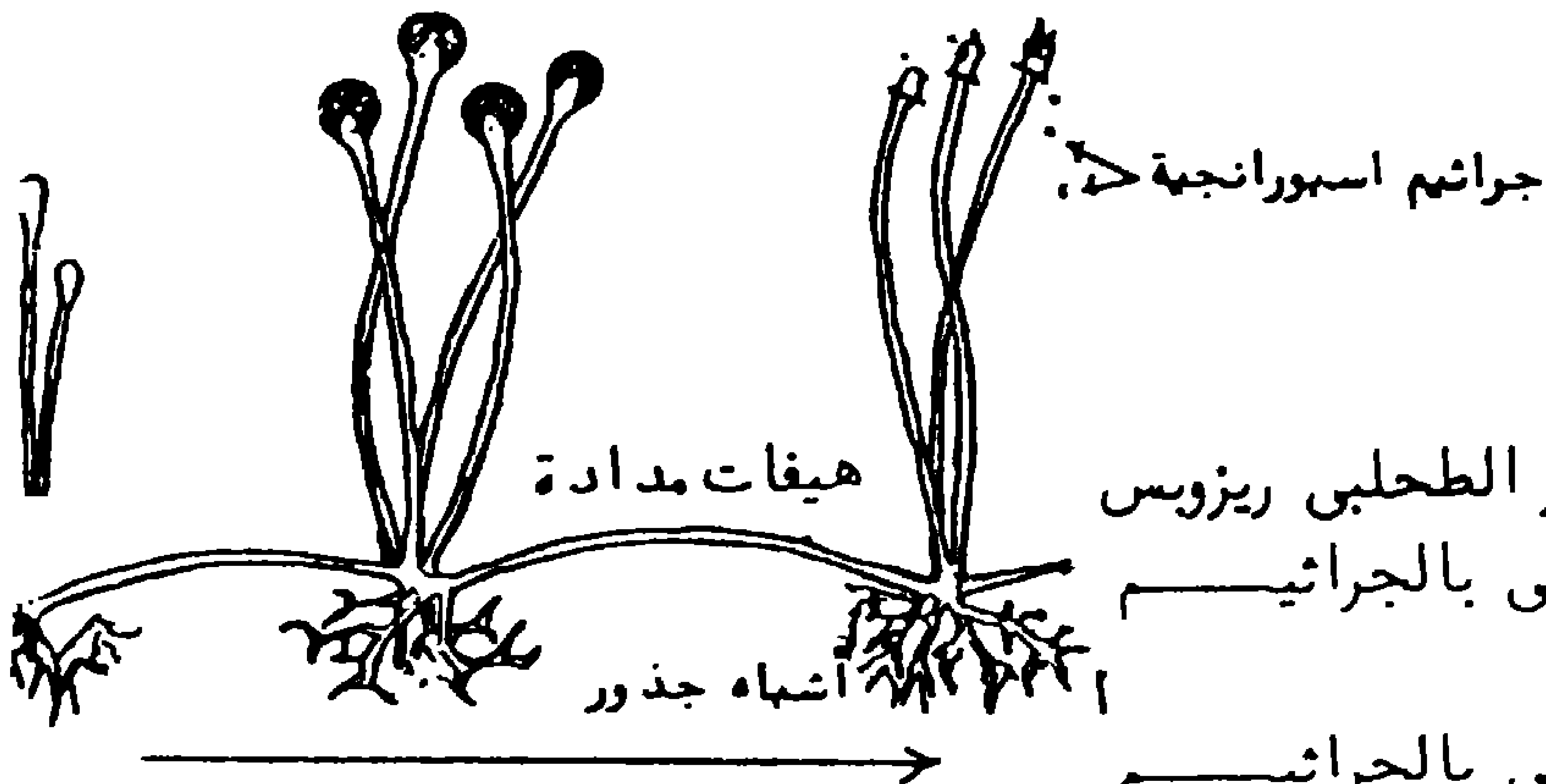
تتضخم نهاية الحامل داخل الكيس الجرثومى مكونة Columella وبعد تمام نمو الكيس الجرثومى يتمزق جدار الكيس الرقيق وتنتشر الجراثيم الأسبورانجية فى الهواء الى أن تسقط فى وسط مناسب لنموها فتنبت وتعيد دورة الحياة ، والجراثيم الأسبورانجية لا يسبق تكونها أى عمليات تزاوجية ، ولذلك فهى جراثيم لا جنسية .

وهى كما لاحظنا تتكون داخل أكياس تميزها عن الجراثيم الكونيدية التى تتكون خارجيا فى الفطريات الراقية .

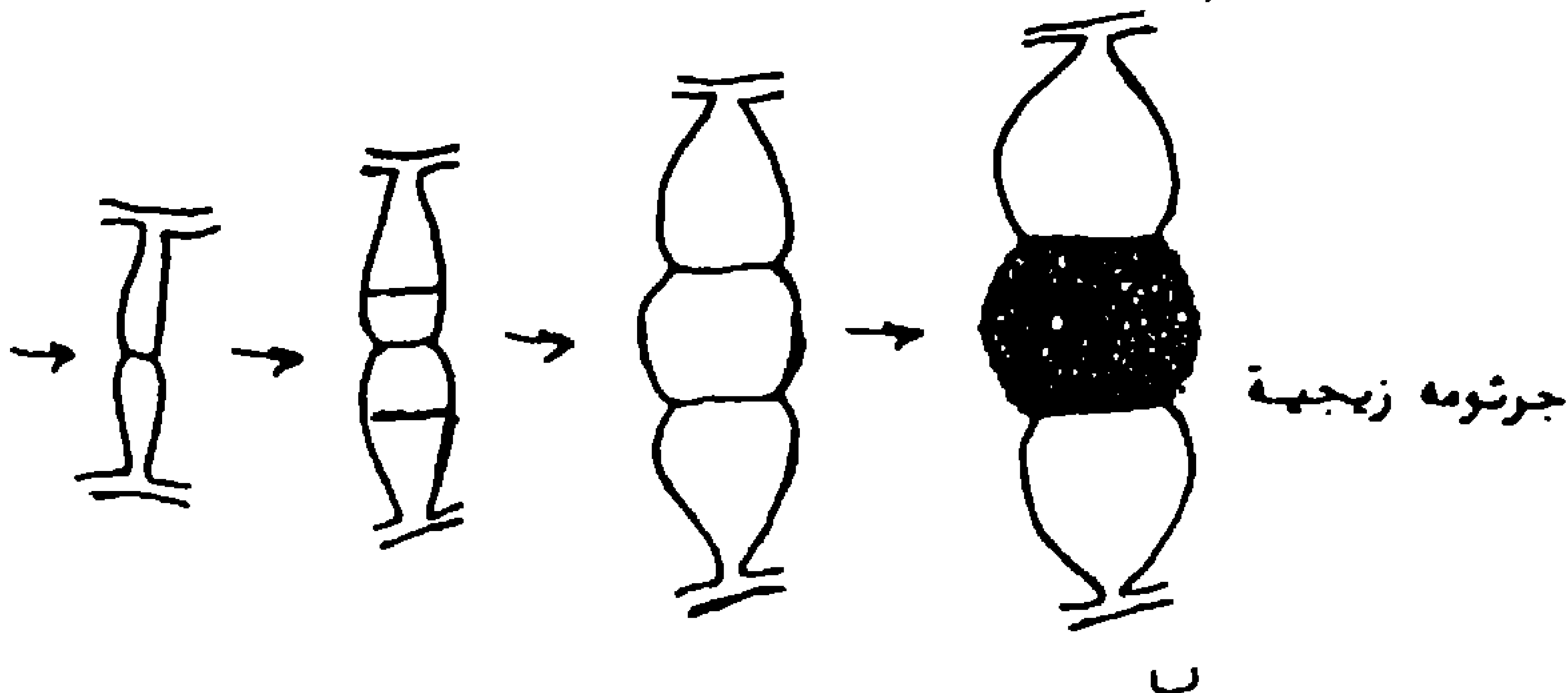
أما التكاثر الجنسى فى هذا الفطر ريزوبس Rhizobus (شكل



شكل ٧-٣ : دورة حياة الفطر المائى اللومايسيز والذى يظهر منه ظاهرة تبادل الأجيال ٠



شكل ٧-٤ : الفطر الطحلبى ريزوبس
أ- التكاثر اللاجنسى بالجراثيم الأسبورانجية ٠
ب - التكاثر الجنسى بالجراثيم الزيجية ٠



٧ ـ ٤ ب) ٠٠ فيبدأ بنمو فرعين قصيرين من هيفتين ناتجتين من ثالوسين مختلفين حيث أن الفطر متباين الثالوس Heterothallic وهذا الفطر يختلف عن فطر اللوميسيز Allomyces ذو الثالوس المتشابه Homothallic والذى ينتج نوعى الخلايا الجنسية على نفس الميسليوم ٠

أما فى الريزوبس Rhizobus فان نوعى الميسليوم اللذان يحدث بينهما التزاوج تسمى السلالتين (+) ، (ـ) لأنه لا يوجد أى فروق ظاهرية بينهما توضح صفات الذكورة أو الأنوثة ٠

وبعد ظهور الفرعين القصيرين من نوعى الميسليوم يلتقى الفرعان ويتكون جدار عرضى Cross wall يفصل طرفى الفرعين عن الهيفات الفرعية وتسمى الخلية الطرفية فى هذه الحالة الكيس الجاميطى Gametangium وهو عديد النويات ، أما الجزء الذى فصل عن الكيس الجاميطى بالجدار العرضى فيسمى المعلق Suspensor .

يذوب الجدار الفاصل بين الكيسين الجاميطين Gametangia ويمتزج البروتوبلاستان من الكيسين ثم تتحد كل نواه من كيس جاميطى مع نواه من الكيس الجاميطى الآخر ، ويتكون بذلك زيجوت عديد النويات وتكون كل نواة ثنائية الأساس الكروموسومى Diploid يكبر الزيجوت ويحاط بجدار سميك ويتكون نتيجة لذلك جرثومة زيجية Zygospore ٠ وعندما تتوفر الظروف المناسبة تنبت الجرثومة الزيجية لتكون الثالوس مرة ثانية والذى يتكاثر بالجراثيم اللاجنسية (الأسبورانجية) ليعيد دورة الحياة ٠ وأول انقسام عند الانبات يحدث انقسام اختزالى ليتكون ثالوس أحادى الأساسى الكروموسومى ٠

ثانيًا : الفطريات الراقية Higher fungi

تختلف الفطريات الأولية (الطحلبية) على اختلاف انواعها عن الفطريات الراقية (الأسكية والبازيدية) على اختلاف أنواعها بصفتين أساسيتين وهما :

(١) الجراثيم اللاجنسية للفطريات الطحلبية تتكون دائما داخليا في تركيبات تشبه الأكياس مثل أكياس الجراثيم الحيوانية السابحة Zoosporangium في الفطريات الطحلبية المائية Aquatic Phycomycetes أو أكياس الجراثيم الأسبورانجية Sporangium والتي تحتوى على الجراثيم الأسبورانجية غير المتحركة في الفطريات الطحلبية الأرضية Terresterial Phycomycetes.

بينما الفطريات الأخرى تتكون فيها الجراثيم اللاجنسية خارجيا على أطراف هيفات خاصة (الحوامل الكونيدية Conidiospore) وتسمى في هذه الحالة الجراثيم الكونيدية Conidiospores (الكونيديا Conidia) كما في شكل (٧ـ٥) .

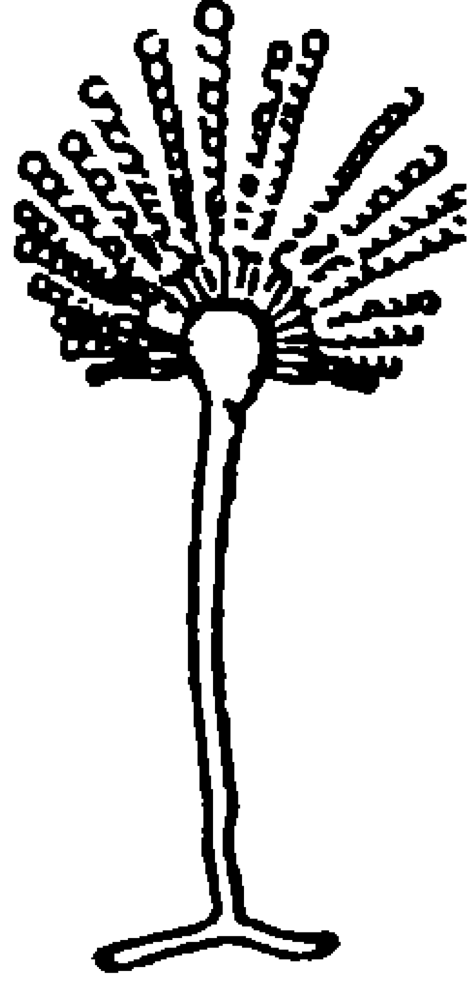
(٢) يكون الميسليوم غير مقسم Nonseptate بجدر عرضية في الفطريات الطحلبية الا في أجزاء تكون تركيبات خاصة مثل الكيس الجاميطى Gamitangium والكيس الاسبورانجي Sporangium حيث يتكون جدار عرضى لفصل هذه الأعضاء الخاصة عن باقي الثالوس . أما في باقي الفطريات فان الميسليوم يكون عادة مقسما بجدر عرضية واضحة على مسافات منتظمة على طول الهيفات.

وحيث أن الفطريات الطحلبية لا تحتوى على جدر عرضية فمن الواضح أنها تكون متعددة الأنوية Coenocytic . وقد يبدو للقارئ أن وجود الجدر العرضية في الفطريات الراقية (الأسكية والبازيدية والناقصة) انما يعني أن هذه الفطريات ذات خلايا وحيدة النواه وليس ذلك صحيحا ، فجميع الفطريات (فيما عدا الخمائر) متعددة الانوية Coenocytic . فالجدر العرضية في الفطريات الأسكية تكون مثقبة بثقوب تسمح بحركة السيتوبلازم والأنوية من خلية الي خلية . أما الجدر العرضية في الفطريات البازيدية فتكون عادة غير كاملة أو مثقبة وتسمح أيضا بحركة السيتوبلازم والأنوية بين الخلايا بحرية كاملة . لذلك ففي جميع الفطريات (ماعدا الخمائر) يكون السيتوبلازم متصلا بين الخلايا حتى وان وجدت الجدر العرضية في بعضها .

١- الفطريات الأسكية Ascomycetous fungi

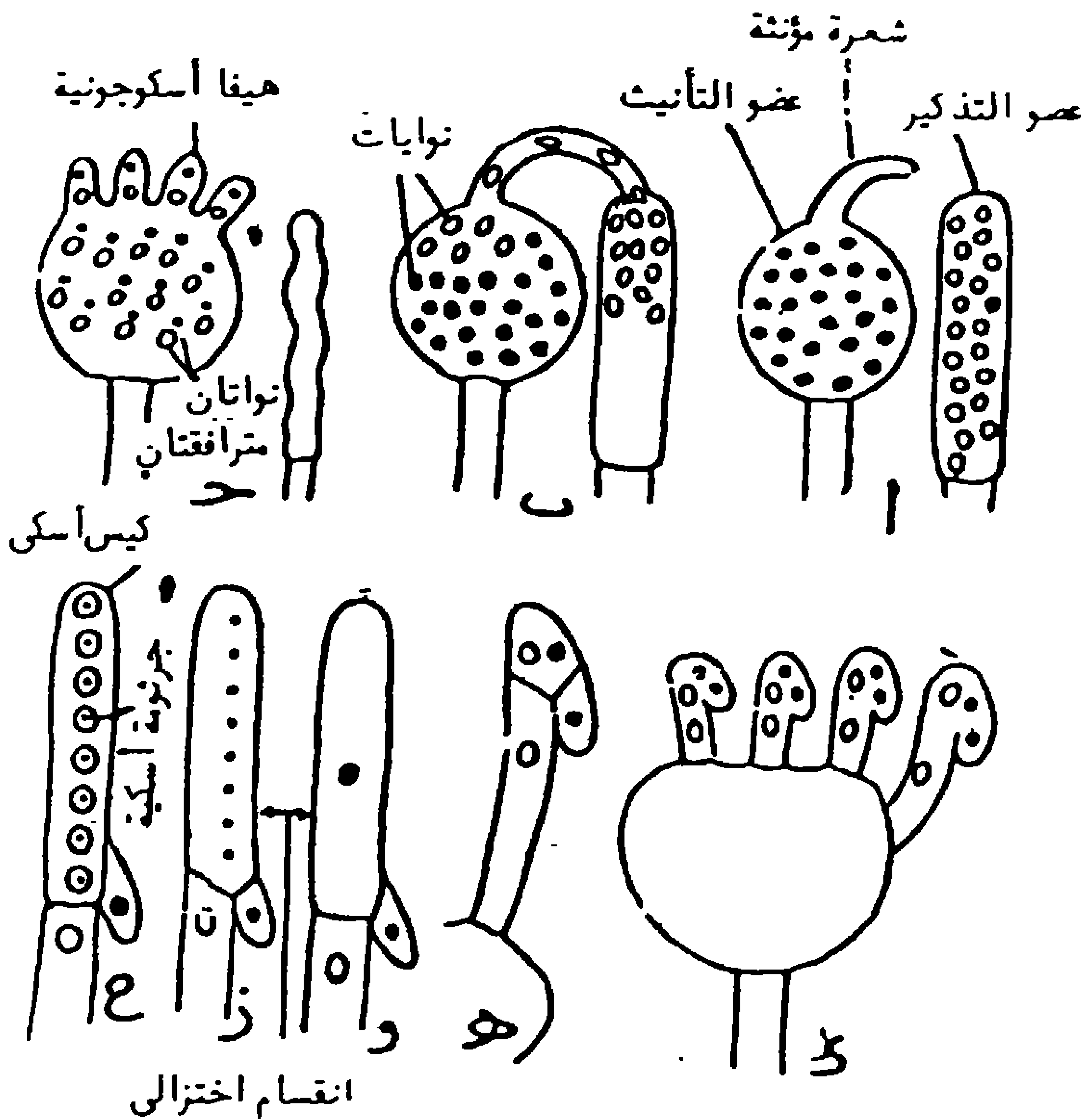
تختلف الفطريات الأسكية اختلافا كبيرا فى الشكل والحجم والتركيب ، فمنها ما هو وحيد الخلية مثل الخمائر ومنها ما يكون ميسليوم متعدد الخلايا وان كانت الجدر العرضية بين الخلايا مثقبة وتسمح بحركة السيتوبلازم والأنوية بين الخلايا ليصبح الميسيليوم عديد الأنوية . وتنتشر الفطريات الأسكية فى الطبيعة انتشارا كبيرا ، ومعظمها يعيش معيشة حرة فى التربة أو يهاجم النباتات والأغذية مسببا تلفيات كثيرة .

تتكاثر الفطريات الأسكية لا جنسيا بالجراثيم الكونيدية - كما سبق الاشارة الى ذلك - وتتكاثر جنسيا بتكوين جراثيم أسكية Ascospores داخل أكياس جرثومية تسمى الأكياس الأسكية Asci . ويحدث التزاوج الجنسى بعدة طرق أهمها أن يتم التزاوج بين أعضاء جنسية متميزة . وهما عضو التأنيث Ascogonium المتكون من انتفاخ كروى الشكل عادة ذو نهاية خيطية تعرف بالشعرة المؤنثة وعضو التذكير Antheridium والمكون من خلية طرفية اسطوانية الشكل . وعضوا التذكير والتأنيث عديدا النوايا عند ما تلامس الشعرة المؤنثة عضو التذكير يذوب الجدار الفاصل فى منطقة التلامس وتنتقل نويات عضو التذكير خلال الشعرة المؤنثة الى عضو التأنيث - تترافق النوايات فى أزواج بحيث يتكون الزوج من نواة من عضو التذكير وأخرى من عضو التأنيث . تبرز من قمة عضو التأنيث هيفات تصبح خطافية الشكل محدودة النمو أحيانا وتسمى بالهيفات الأسكوجونية Ascogenous hyphea ينتقل الى كل منها نواتين مترافقتين تنقسم كل منها انقساما غير مباشر وتتكون أربع نوايات . واذا تبقى أنوية فى عضو التأنيث فانها تتحلل عادة ، يتكون جدار يفصل عضو التأنيث عن الهيفا الأسكوجونية . ثم يتكون جداران داخل كل هيفا أسكوجونية فيتكون ثلاث خلايا . الطرفية تحتوى على نواه واحدة ، والوسطية وتقع عند انحناء الهيفا وتحتوى على نواتين احداهما ناتجة عن انقسام نواة مذكرة ، والأخرى ناتجة عن انقسام نواه مؤنثة ، والخلية القاعدية تحتوى على نواة واحدة . تندمج نواتا الخلية الوسطية للهيفا الأسكوجونية وتتكون نواة واحدة ثنائية الأساس



شكل ٧-٥ : الحامل الكونيدى لفطر اسبرجيللس Aspergillus ويحمـل سلاسل من الجراثيم الكونيدية التـى تتكون خارجيا وبدون أكياس.

شكل ٧-٦ : خطوات تكوين الأكيـاس الأسكية فى الفطريات الأسكية.



الكروموسومى ثم تنقسم تلك النواة انقساما اختزاليا ثم انقساما غير مباشـر لتنتج ثمان نوايات تحيط كل منها نفسها بجزء من السيتوبلازم ثم تفـرز حول نفسها جدار متحولة الى جرثومة أسكية Ascospore . وفى هـذه الأثناء تكبر الخلية الوسطى المحتوية على ثمانى جراثيم أسكية وتصبـح كيسا أسكيا Ascus (شكل ٧ـ٦) .

قد تكون الأكياس الأسكية عارية كما فى الخميرة ، ولكنها غالبـا ماتتكون داخل أو على أجسام ثمرية أسكية Ascocarps ، ويوجد منها ثلاثة أنواع كالآتى :

١ـ أجسام ثمرية كمثرية مغلقة Cleistothecia وهى عـادة كروية الشكل ليس لها فتحة ، وتوجد بها الأكياس الأسكية . تنتشـر الأكياس الأسكية والجراثيم بتحلل جدار الجسم الثمرى أو بتمزقه . وتشاهد الأجسام الثمرية المغلقة فى الفطريات ايروشيم وتالاروميسيز Eurotium and Talaromyces .

٢ـ أجسام ثمرية كمثرية Perithecia وهى عادة كروية الـى كمثرية الى قارورية ولها عنق يسمى فوهة Ostiole . وهى تنفتح عنـد النضج بفتحة . توجد الأكياس الأسكية مرتبة بانتظام ومتوازية . وتشاهـد الأجسام الثمرية الكمثرية فى الفطر كيتوميم . Chaetomium .

٣ـ أجسام ثمرية مكشوفة Apothecia ، وهى أجسام ثمرية قـد تكون قرصية أو قمعية أو كأسية أو ذات قلنسوة . وتحمل الأكياس الأسكيـة مرتبة ومتوازنة على سطحها عادة كما الفطريات بيزيزا ومورشيللا Peziza and Morchella .

٢ـ الفطريات البازيدية Basidiomycetuous fungi

تختلف الفطريات البازيدية أيضا اختلافا كبيرا فى الشكل والحجـم والتركيب ، فمنها ما هو وحيد الخلية مثل الخمائر التابعة للفطريـات البازيدية ومنها ما يكون ميسليوم عديد الأنوية . وتسبب الفطريـات البازيدية أمراضا هامة للنباتات منها أمراض الأصداء والتفحمات . والكثيـر

منها يعيش مترمما فى التربة وقد تسبب تحلل للمواد العضوية وتعفنا للأخشاب٠

ومن الفطريات البازيدية فطريات عيش الغراب التى تستعمل كغذاء فى كثير من البلدان ٠ كما أن بعض فطريات عيش الغراب على درجة عالية من السمية٠

ميسليوم هذه الفطريات مقسم بجدر عرضية غير كاملة أو مثقبة من منتصفها وقد تتضخم الجدر العرضية فى الأجزاء المحيطة بالثقوب٠

تتكاثر هذه الفطريات لاجنسيا بتكوين جراثيم كونيدية Conidiospore كما فى بعض فطريات التفحم Smuts أو بتكوين جراثيم يوريدية Uridiospores كما فى فطريات الأصداء Rusts .

يحدث التكاثر الجنسى بطرق مختلفة ٠ فقد يحدث بتزاوج هيفتين خضريتين من ثالوسين مختلفين كما فى فطر عيش الغراب أو بعملية تلقيح Spermatization كما فى غالبية فطريات الأصداء٠ وينتهى التكاثر الجنسى بتكوين حوامل بازيدية Basidia (ومفردها Basidium) تتكون عليها خارجيا جراثيم بازيدية Basidiospores ٠ وقد تكون الحوامل البازيدية عارية أو قد تكون محمولة على أجسام ثمرية خارجيا كما فى عيش الغراب Mushroom أو داخليا كما فى نجمة الأرض Geastrum يحمل الحامل البازيدى أربع جراثيم بازيدية على أطراف مدببة عادة تسمى Strigma ٠ يتكون عند أسفل كل الجراثيم البازيدية قطيرة سائل صغيرة ذات دور كبير فى اطلاق الجراثيم البازيدية بعيدا عن الحامل بعد تمام نضجها ٠ وقد يكون الحامل البازيدى مقسم بجدر عرضية ويحمل الجراثيم جانبيا كما فى فطر باكسينيا <u>Puccinia graminis</u> وقد يكون غير مقسم ويحمل الجراثيم طرفيا كما فى فطر عيش الغراب Mushroom

من ذلك يتضح أن الفطريات الراقية (الأسكية والبازيدية) لهما ميسليوم مقسم Septate بجدر عرضية وكلاهما أيضا يتكاثر لا جنسيا بتكوين جراثيم لا جنسية خارجيا ٠ كما أن التكاثر الجنسى فيهما على درجة

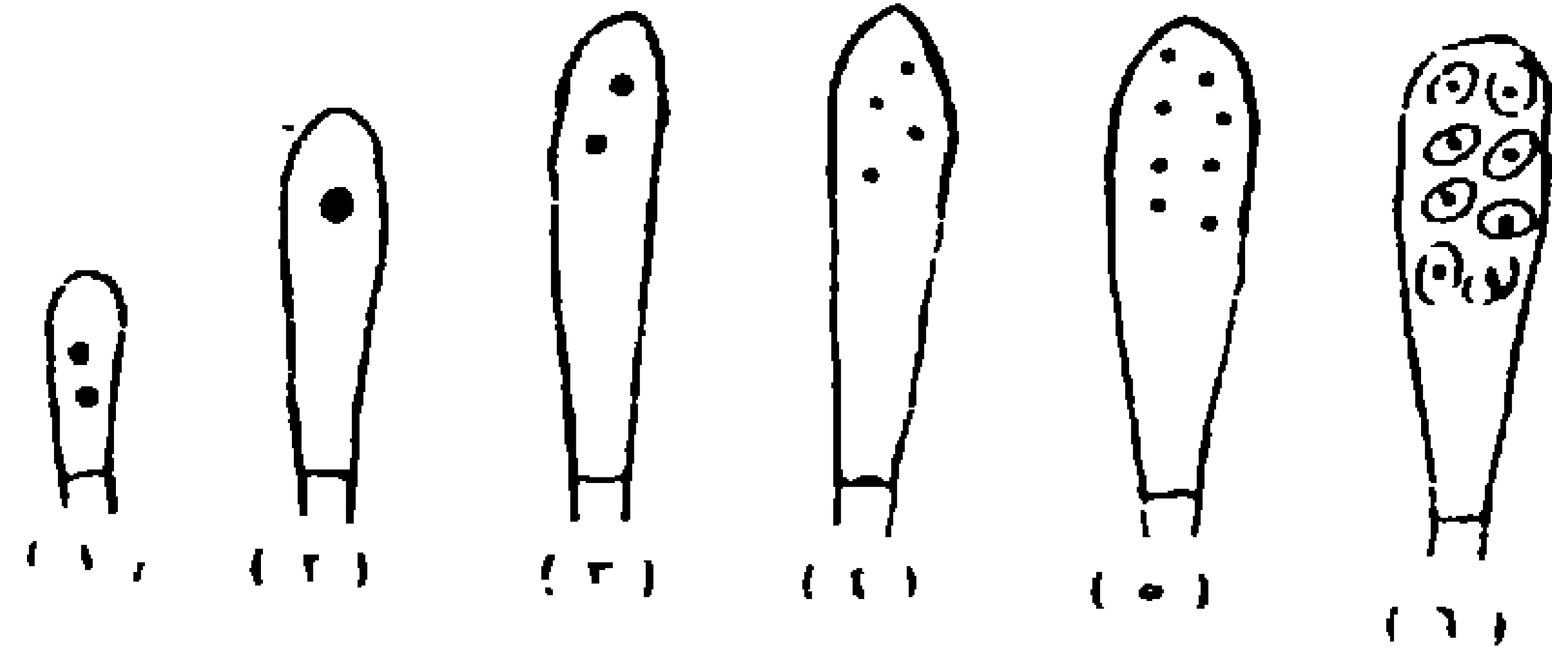
عالية من التشابه · والشكل (٧ـ٧) يوضح مدى التشابه فى التكاثـــر الجنسى بين الفطريات الأسكية والبازيدية · فبعد تكون الزيجوت ygote فى هذه الفطريات يحدث انقسام اختزالى يتبعه تكوين أربعة الى ثمانيـة جراثيم جنسية أحادية الأساس الكروموسومى Haploid التى تتكـــون على الحامل البازيدى أو فى الكيس الأسكى ·

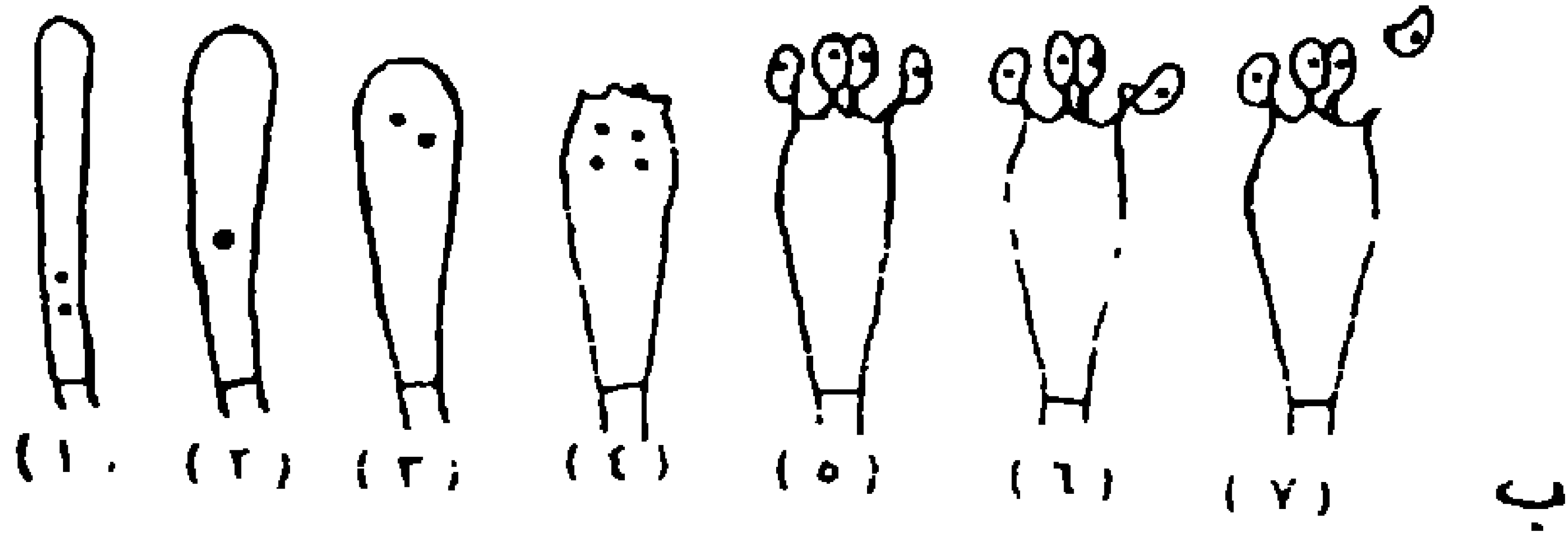
وتكوين الكيس الأسكى Ascus هو صفة تتميز بها الفطريات الأسكية دون غيرها ، بينما تكوين الحامل البازيدى Basidium هو صفة تتميـز بها الفطريات البازيدية فقط · يتكون الكيس الأسكى فى الفطريات الأسكيـة من الجدار الخلوى للزيجوت حيث تنقسم النواة انقساما اختزاليا يتبعـه انقسام غير مباشر Mitotic division واحد أو اثنين أو اكثر وتحـاط كل نواة بكتلة من السيتوبلازم وتصبح جرثومة أسكية بعد تغليفها بالجدار الخلوى · وتنطلق هذه الجراثيم الأسكية عند انفجار الكيس الأسكى ·

أما فى الفطريات البازيدية فان الزيجوت يتضخم وتنقسم النـــواة انقساما اختزاليا يتبعه انقسام غير مباشر Mitotic division لتكويـن أربع أنوية أحادية الأساس الكروموسومى Haploid · والأحداث التـى تلى ذلك تختلف عما يحدث فى الفطريات الأسكية · فالنوايات الأربـع تحيط نفسها بكتلة سيتوبلازمية ولكن لا تتكون جراثيم داخل الحامـل البازيدى ، بل يتكون على سطح الحامل البازيدى أربع أطراف مدببـة تسمى Sterigma تهاجر اليها الأنوية فتتضخم ثم يتكون جدار عرضى عند قاعدة كل تضخم ، وبذلك تتكون ٤ خلايا منفصلة عن الحامل البازيـدى وهى الجراثيم البازيدية ، ويتكون عند قاعدة كل جرثومة بازيدية نقيطـة سائل حجمها يساوى $\frac{١}{٥}$ حجم الجرثومة البازيدية · وهذه النقيطـة تلعب دورا كبيرا فى اطلاق الجراثيم البازيدية فى الهواء ·

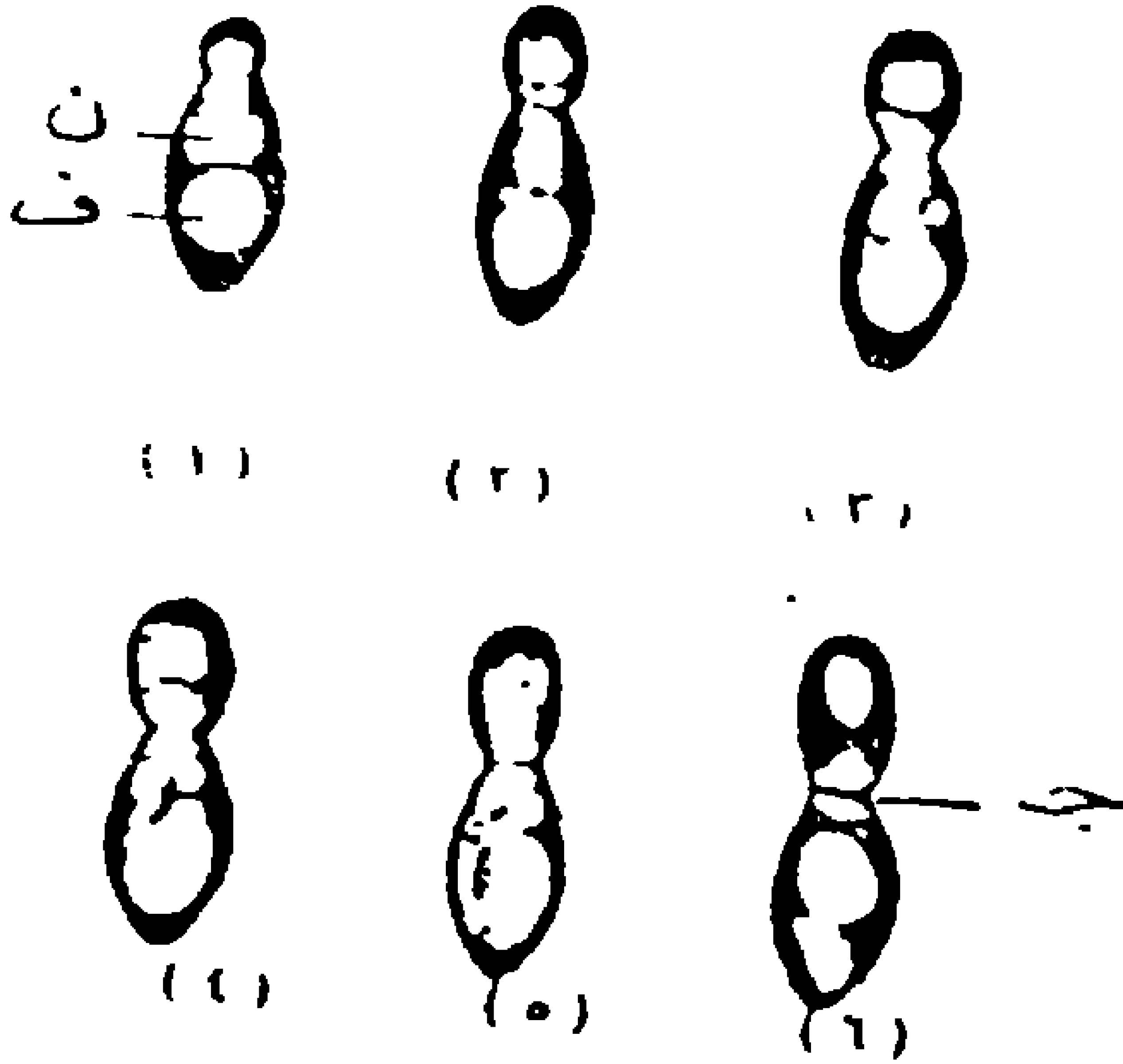
٣ـ الفطريات الناقصة Imperfect fungi

ان تقسيم الفطريات الراقية Higher fungi الى فطريـات أسكية وبازيدية له عيب واحد · هذا العيب ينحصر فى ضرورة مشاهـدة

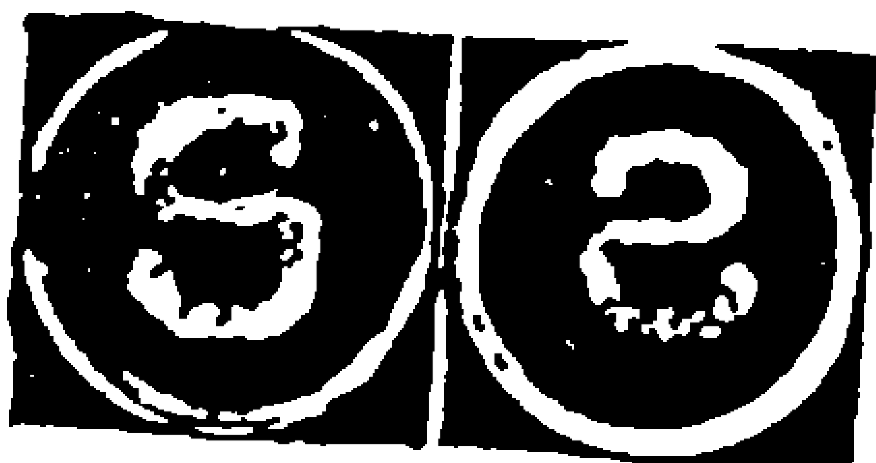




شكل ٧ـ٧ : التكاثر الجنسى فى:
أ ـ الغطريات الأسكية ·
ب ـ الغطريات البازيدية ·



شكل ٧ـ٨ : سلسلة من صور بالمجهر الالكترونى توضح تطور تكوين البراعم فى احدى الخمائر (ويكرهاميا Wickerhamia) (ن) نواة ـ (ف) فجوة (جـ) جدار عرضى ·



شكل ٧ـ٩ : تكوين صورة مرآة لمستعمرة من خميرة سبوروبولومايسيز Sporobolomyces نتيجة لدفع الجراثيم البازيدية من الحامل البازيدى عند نضجها ·

الجراثيم الجنسية حتى يمكن وضع فطر ما فى الفطريات الأسكيــــة أو البازيدية ، وبدون مشاهدة الجراثيم الجنسية فانه يصبح من المستحيــل وضع هذا الفطر فى أى من المجموعتين السابقتين .

وحيث ان تباين الثالوس Hetorothallism شائع جدا فــى الفطريات الراقية فانه كثيرا ما تعزل سلالات من الفطريات غير القــادرة على تكوين جراثيم جنسية .

ومثل هذه السلالات لن يمكنها تكوين جراثيم جنسية الا بعــد أن تتزاوج مع الجنس الثانى (المكمل) لها ، ونتيجة لذلك وجد لدينا أعداد كبيرة من الفطريات غير القادرة على تكوين جراثيم جنسية ، لذلك تسمى هذه الفطريات بالفطريات غير الكاملة (أو التى لم يكتشف دورة - حياتها الكاملة) أو الفطريات الناقصــة .

وعند اكتشاف الجراثيم الجنسية لأى من هذه الفطريات فانهــا تنقل من قسم الفطريات الناقصة الى المكان المناسب لها .

الخمائر Yeasts

الخمائر هى مجموعة من الفطريات الأسكية والبازيدية والناقصــة ، ولو أن الفطريات تتميز بتكوين ميسليوم عديد الأنوية Coenocytic ، الا أن الخمائر (ولو أنها فطريات) تكون عادة وحيدة الخلية Unicellular وحيدة النواة Uninucleate وتتكاثر لا جنسيا بالتبرعم Budding مختلفة بذلك فى صفاتها عن الفطريات.

والخميرة عبارة عن خلايا صغيرة بيضاوية أو كروية تتكاثر خضريــا بتكوين براعم (شكل ٧-٨) عندما يكتمل نمو هذه البراعم فانها تنفصــل عن الأم بجدار عرضى ، وقد ينفصل البرعم عن الأم مكونا خلايا فردية ، أو قد يستمر البرعم متصلا بالأم مع وجود اختناق بين الخليتين ، وعند مــا يتكرر تكويــن الخلايا مع وجود الحزوز بينهما يتكون ما يعرف باســـم

الميسليوم الكاذب Pseudomycelium وان كانت بعض الخمائر قادرة على تكوين ميسليوم حقيقى بدون حزوز بين الخلايا ٠

بالرغم من أن الخمائر تشكل فرعا صغيرا من الفطريات الراقية بالنسبة لعدد الأنواع ٠٠ فالخمائر المعروفة حوالى ٥٠٠ نوع من مجموع الفطريات الذى يبلغ حوالى ٨٠،٠٠٠ نوع ٠ الا أن الخمائر تشكل مجموعة هامة من الأحياء الدقيقة ٠ معظم الخمائر لا تعيش فى التربة ولكن الخمائر تأقلمت على بيئات ذات تركيزات عالية من السكر كما فى رحيق الأزهار وسطح الفواكه ، كما أن بعض الخمائر (القادرة على التخمير) استخدمها الانسان (مثل خميرة الخباز Baker's Yeast) لأغراض عديدة منذ قديم الزمان مثل صناعة الخبز ٠

الخمائر تتبع فى تقسيمها — كما سبق الذكر — الفطريات الأسكية والبازيدية والناقصة ، والخمائر التى تتبع الفطريات الأسكية يصبح جدار الزيجوت هو جدار الكيس الأسكى ٠٠ بينما فى الخمائر التى تتبع الفطريات البازيدية فان جدار الزيجوت يصبح هو الحامل البازيدى ٠

ويلاحظ أن الخلية الأم تصبح حامل بازيدى تحمل الجراثيم البازيدية وتنطلق الجراثيم البازيدية من الحوامل البازيدية بميكانيكية النقيطة السابقة الذكر ٠ فاذا وضع طبق بترى محتوى على مزرعة من الخميرة البازيدية المسماة sporobalomyces مقلوبا فوق طبق آخر يحتوي على مستنبت نظيف معقم مساو له ، فان صورة كاملة لمزرعة الخميرة تظهر على الطبق النظيف نتيجة لانطلاق الجراثيم البازيدية من الطبق العلوي الى الطبق السفلى كما فى شكل (٧_٩) ٠

أما الخمائر التى تتبع الفطريات الناقصة فلا يتكون فيها جراثيم جنسية كما ذكرنا سابقا ٠٠ وقد تكون الخمائر أحادية الأساس الكروموسومى Haploid معظم فترة حياتها فيتم التزاوج مباشرة قبل تكوين الزيجوت ثم يحدث الانقسام الاختزالى لتكوين الجراثيم الأسكية ، وقد تكون الخمائر ثنائية الأساس الكروموسومى فلا يحدث تزاوج قبل تكوين الزيجوت، ويؤدى الانقسام الاختزالى لنواة الخلية الأم الى تكوين جراثيم أحادية

الأساس الكروموسومى Haploid تندمج مع خلية أخرى فور الانبـات لتكوين Thallus ثنائى الأساس الكروموسومى .

ورغم أن التبرعم هو الوسيلة الرئيسية للتكاثر اللاجنسى فـى الخمائر الا أن بعض الخمائر يتكاثر بالانقسام الثنائى Binary fission مثـل البكتيريا ، وقد وضعت هذه الخمائر فى جنس بمفردها وهو الجنـس Schizosaccharomyces

الفطريات اللزجة Slime Molds

الفطريات اللزجة لا تقسم كفطريات حقيقية بالرغم من أن لها بعض صفات تشبه صفات الفطريات الحقيقية ، وتوضع الفطريات اللزجة فى قسم Myxomycetes

تعيش معظم الفطريات اللزجة فى الأماكن الرطبة الظليلة علـى الأخشاب المتحللة والأوراق المتساقطة .

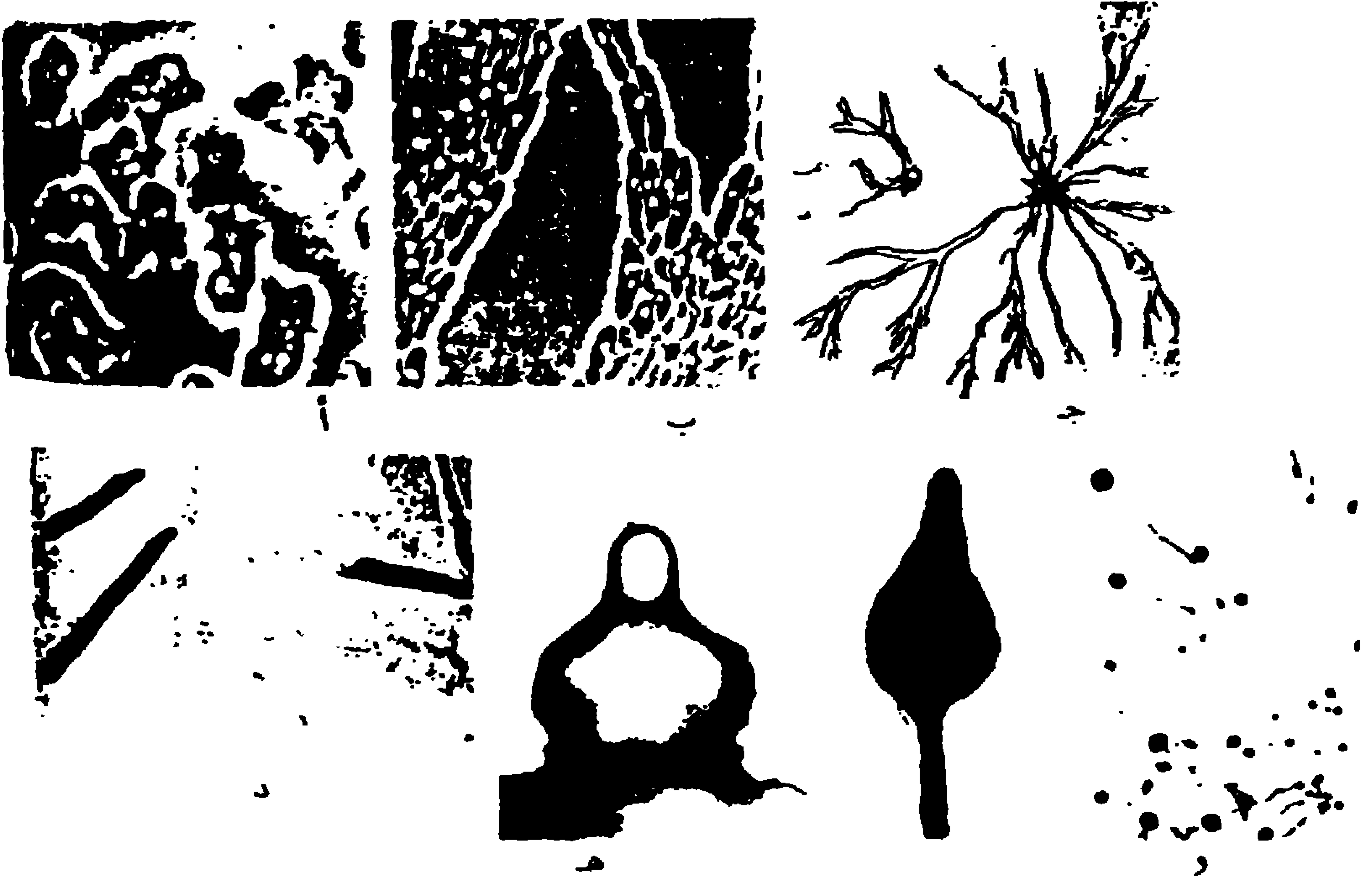
وتتميز هذه الفطريات بتكوين جسم خضرى يعرف بالبلازموديـم Plasmodium(وليس ميسليوم كما فى الفطريات الحقيقية) . والبلازموديـوم عبارة عن كتلة بروتوبلازمية عارية لا تحاط بجدار خلوى ولكن تحاط بغشـاء بلازمى رقيق تتحرك بالأقدام الكاذبة مثله فى ذلك مثل الاميبا ، ويبتلع فـى طريقة ما يقابله من الكائنات الصغيرة كالبكتيريا أو البقايا النباتية المتحللة. كما يتغذى البلازموديوم أيضا بالامتصاص من جميع أسطحه . وهذا الجـزء من دورة حياة الفطريات اللزجة يشبه البروتوزوا مع اختلاف جوهرى عـام أن البروتوزوا وحيدة النواة عادة ، ولكن البلازموديوم متعدد الأنوية .

يستمر البلازموديوم فى النمو الخضرى على المواد المتحلله طالمـا بقيت الظروف البيئية مناسبة للنمو الخضرى ويكون ذلك مصحوبا بانقسـام النواة انقسامات عديدة .. وقد تصل هذه الكتلة البروتوبلازمية الى عـدة مئات من الجرامات ومحتوية على عدة آلاف من الأنوية .

ولكن اذا تعرض البلازموديوم لظروف الجفاف النسبي في البيئة المحيطة به فانه يكون أجساما ثمرية ذات اشكال محددة تميز الأجناس والأنواع المختلفة ، وتتكون هذه الأجسام الثمرية بتحول جزء من البلازموديوم الى خلايا وحيدة النواة وذات جدر خلوية ترتفع عن سطح البلازموديوم ، ثم تنمو الى أعلى مكونة الأجسام الثمرية من خلايا وحيدة النواة وذات جدر خلوية ·

وتحمل هذه الأجسام جراثيم وحيدة النواة أيضا · وبعد تحررها من الأجسام الثمرية ، وعند توفر الظروف المناسبة تنبت الجراثيم مكونة جاميطات Gametes أميبية يتحرك كل منها بسوط واحد · تتحد هذه الجاميطات الأميبية في أزواج لتكوين زيجوتات مزدوجة الأسواط · وبعد فترة من الوقت يفقد الزيجوت الأسواط ويكون بلازموديوم جديد ذو أنوية ثنائية الأساس الكروموسومي Diploid ولا يحدث الانقسام الاختزالي الا قبل تكوين الجراثيم في الأجسام الثمرية ، وتشبه هذه الأجسام الثمرية الفطريات الحقيقية لحد بعيد · أما البلازموديوم فهو يشبه البروتوزوا في عدم وجود الجدر الخلوية · ولا يغيب عن أذهاننا أن البلازموديوم والميسليوم تركيبان على درجة كبيرة من الشبه ولا يختلفان الا في غياب الجدار الخلوى من البلازموديوم.فقد سبق أن ذكرنا ان الميسليوم عبارة عن كتلة بروتوبلازمية متعددة الأنوية تتحرك بحركة سيتوبلازمية داخل نظام متفرع من الأنابيب (الجدر الخلوية) · والبلازموديوم أيضا عبارة عن كتلة بروتوبلازمية متعددة الأنوية تتحرك بالحركة السيتوبلازمية على سطح البيئة ولا يحيط بها أى جدر خلوية · لذلك فالحركة السيتوبلازمية في الميسليوم محددة بالجدر الخلوية ، أما الحركه السيتوبلازمية في البلازموديوم فهي حرة في أى اتجاه نتيجة عدم وجود الجدر الخلوية ·

وتشمل الفطريات اللزجة مجموعة صغيرة من الكائنات تسمى الأكراسيا Acrasieae (شكل ٧ــ١٠) وهي تشبه البروتوزوا أكثر من الفطريات اللزجة الأخرى ، فالخلايا الخضرية فيها عبارة عن خلايا أميبية وحيدة النواة وتنقسم بالانقسام الثنائي ، ولا يمكن تمييزها بأى طريقة عن الأميبا



شكل ٧ ـ ١٠ : صورة مجهرية للمراحل المختلفة لدورة حيـــاة أحد الفطريات اللزجـة Dictyostelium discoideum

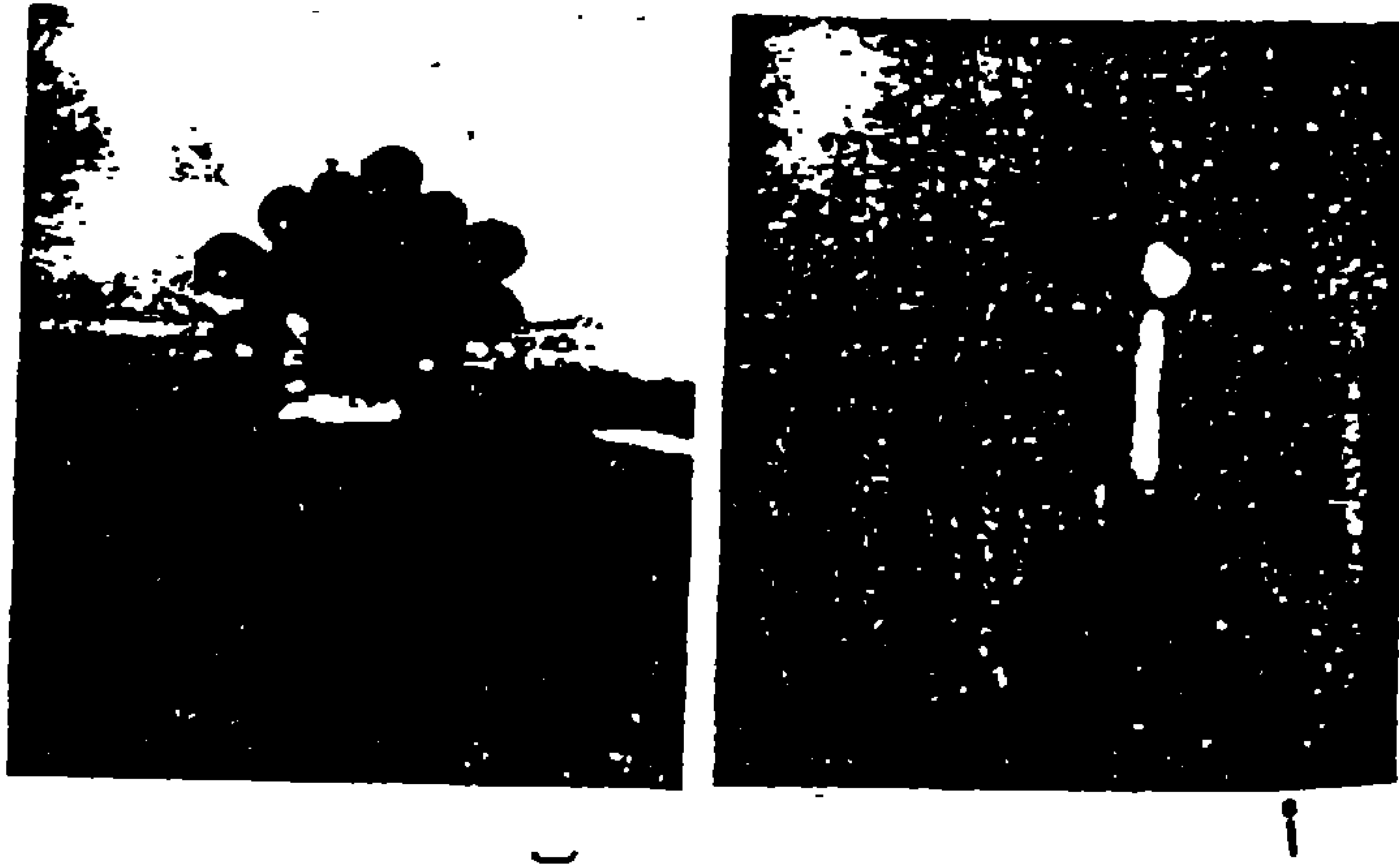
أ ـ الشكل الاميبى غير المنتظم

ب ـ الشكل الاميبى المنتظم

جـ ، د تكوين البلازموديم .

هـ ، و تكوين الأجسام الثمرية .

في هذه المرحلة من مراحل حياتها . ولكن عند توفر الظروف المناسبة تكون الأكراسيا أجساما ثمرية مكونة من خلايا ذات جدر خلوية وحيدة النواة. كما تكون جراثيم ذات جدر خلوية وحيدة النواة، وهذه الجراثيم تنبت عند توفر الظروف المناسبة وتفقد الجدار الخلوى وتكمل دورة الحياة في الصورة الأميبية وهذا النمط من دورة الحياة يشبه نمط دورة حياة أحد الكائنات ذات النواة البدائية والتي تسمى Myxobacteria (شكل ٧_١١).



شكل ٧_١١ : صور فوتوغرافية للأجسام الثمرية للميكسوبكتيريا (بدائية النواة) لتوضيح الشبه بينها وبين مثيلتها فى الفطريات اللزجة

أ _ ميكسوكوكاس ستيبيتاتاس Myxococcus stipitatus

ب _ بود انجيام أريكتم ، Podangium erectum

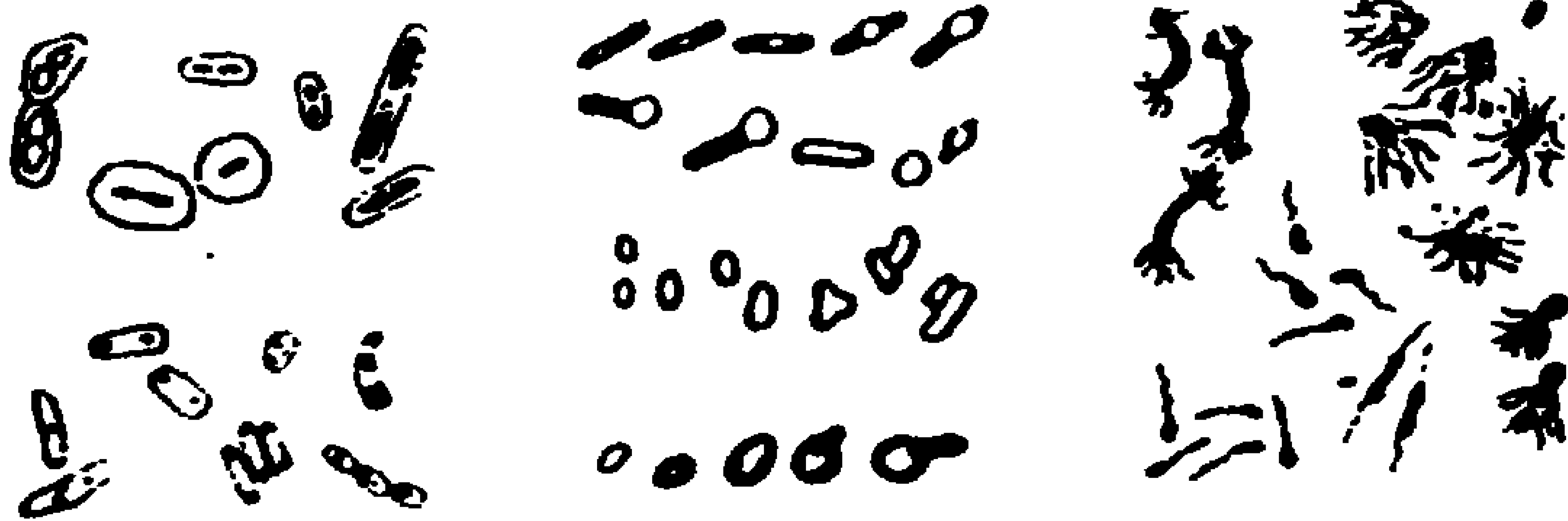
البَابُ الثالث

الأحيَاء الدقيقة بدائيـة النواة (البكتيريا)

الفصل الثامن : الشكل الظاهري للأحياء الدقيقة بدائية النواه ..

الفصل التاسع : التركيب التشريحي والوظيفي للأحيَاء الدقيقة بدائية النواه ...

الفصل العاشر : تقسيم الأحيـاء الدقيقة بدائية النواه ..



الفصل الثامن

الشكل الظاهرى للأحياء الدقيقة بدائية النواة
(البكتيريا)

تعتبر دراسة الشكل الظاهرى للبكتيريا أحد الفروع الأساسية لعلم البكتيريا Bacteriology • وعلم البكتيريا هو العلم الذى يختص بدراسة الأحياء الدقيقة الخلوية بدائية النواة Procaryotes والمعروفة باسم البكتيريا •

ورغم أن هناك درجة محدودة من التكشف Differentiation فى القليل من ذوات النواة البدائية ، الا أنه لا يوجد بأيهمنها تلك الدرجات المتقدمة من التكشف Differentiation كالتى تتميز بها بعض البروتستا Protists مثل الطحالب المسوطة Dinoflagellates والهدبيات Ciliates .

ويجب الاشارة الى أن مجموعة واحدة من ذوات النواة البدائية (الميكسو بكتيريا Myxobacteria) تكون أجسام ثمرية متعددة الخلايا عن طريق تجمع الخلايا الخضرية ، وهى تشبه فى ذلك مجموعة الفطريات اللزجة التابعة لـ Myxomycetes• كما أن بعض البكتيريا الخضراء المزرقة Blue Green bacteria ، وبعض البكتيريا التى تكون ميسليوم (الأكتينوميسيتس Actinomycetes) تكون متعددة الأنوية Coenocytic or multinucleate وتكون تركيبات تشبه الهيفات التى تلاحظ فى الفطريات وتتكاثر بالجراثيم ولكن أيا من ذوات النواة البدائية ذات الهيفات لا تصل الى حجم أو درجة تعقيد شبيهاتها من ذوات النواة الحقيقية كالطحالب الحمراء Red algea أو الطحالب البنية Brown algea أو الفطريات البازيدية Basidiomycetous fungi• ولكن هذه الملاحظة جديرة بالتوقف ، اذ أن التركيبات الخيطية (الهيفات) فى كلا من ذوى النواة البدائية والحقيقية يدل على أن التطور فى كلا

القسمين من الكائنات الحية قد سار فى خطوط متوازية ٠

انتشار البكتيريا

توجد البكتيريا منتشرة بكثرة فى الطبيعة ، فهى توجد فى الهواء ويقل عددها كلما ارتفعنا عن سطح الأرض ، وقد أمكن اثبات وجودها على ارتفاع سبعة كليومترات من سطح الأرض. كما توجد البكتيريا فى التربة حتى على أبعاد عميقة ، وان قل عددها كلما ابتعدنا عن سطح الأرض تعمقا ٠ وهناك تقارير تشير الى وجودها على عمق خمسة كليومترات من سطح الأرض. كما توجد البكتيريا فى الماء العذب والمالح ، فقد ثبت وجودها فى مياه الأنهار والبحار والمحيطات والبحيرات ، كما ثبت وجودها أيضا فى ينابيع الماء الساخن Hot Springs والتى تصل حرارتها الى ٧٥°م أو أكثر ٠ كما وجدت البكتيريا فى ثلوج القطب الشمالى ، كما توجد البكتيريا فى الأطعمة وعلى سطح الجلد وفى أمعاء الانسان والحيوان وعلى سطح النبات ، وفى كل مكان تقريبا ٠

وتعرف الكائنات الدقيقة الموجودة فى أى بيئة باسم الميكروفلورا الطبيعية Natural microflora لهذه البيئه ٠ وقد يصل عدد البكتيريا فى الجرام الواحد من التربة الخصبة الى أكثر من ١٠٠ مليون ، بينما يصل عدد البكتيريا فى الجرام الواحد من براز الانسان الى عدة بلايين ٠ كما أن اللبن المحلوب تحت ظروف فى غاية النظافة فى أنظف مزارع الألبان قد يحتوى على ٥٠٫٠٠٠ بكتيريا فى المليمتر الواحد. كما توجد البكتيريا أيضا فى الكثير من عينات مياه الشرب ولكن لا يجب أن يزيد عدد البكتيريا فى الماء المصرح به للشرب عن ١٠٠ خلية بكتيرية فى المليمتر الواحد ، كما يجب ألا تكون هذه البكتيريا من الأنواع الممرضة أو حتى البكتيريا التى مصدرها فضلات الانسان والحيوان ٠

وعلى أى حال فيمكن باختصار القول أن البكتيريا توجد فى كل مكان تقريبا ما عدا أماكن قليلة جدا فى الطبيعة مثل دم الحيوانات السليمة الطبيعية وأنسجتها الداخلية فى حالة خلوها من الأمراض ، ويستثنى

من ذلك القناه الهضمية . وكذلك لا توجد البكتيريا فى الأنسجة الداخلية السليمة للنباتات فيما عدا حالات خاصة مثل العقد الجذرية وحالات الميكوريزا . كما أن فوهات البراكين النشطة أيضا تكون خالية من الأحياء الدقيقة . ولا توجد كائنات حية دقيقة أيضا فى محاليل الأحماض والقلويات القوية وبعض الأملاح . كما ينعدم وجود الأحياء الدقيقة أيضا فى الأوانى والأدوات التى سبق تعقيمها تعقيما جيدا دون تعريضها لأى مصدر للتلوث بعد التعقيم .

دراسة الشكل الظاهرى للبكتيريا :

Morphology of Bacteria

تتضمن دراسة الشكل الظاهرى للبكتيريا التحقق من حجم وشكل البكتيريا وطريقة تجمع الخلايا عقب عملية الانقسام . وكذلك التأكد من وجود أعضاء خاصة للحركة (أسواط Flagella) وكيفية توزيع هذه الأعضاء على سطح الخلية أو وجود أى زوائد أخرى على سطح الخلية . وكذلك دراسة صفات المستعمرات Colonies التى تكونها البكتيريات المختلفة ، وكذلك استجابة البكتيريا للصبغات المختلفة مثل صبغة جرام وغيرها . .

أ ـ حجم البكتيريا Size of Bacteria

بالرغم من أن حجم البكتيريا صغير بصفة عامة ، فانه يوجد مدى كبير من الحجم للبكتيريات المختلفة (شكل ٨ـ١) . لذلك لا يمكن اتخاذ الحجم كوسيلة دقيقة للتمييز بين البكتيريا والكائنات الدقيقة الأخرى من ذوات النواة الحقيقية (البروتستا Protists) حيث أن أكبر خلايا البكتريا تفوق فى الحجم أصغر الكائنات وحيدة الخلية من البروتستا Protists (الكائنات ذات النواة الحقيقية Eucaryotes) ولكن ـ بصفة عامة ـ يمكن القول أن متوسط حجم الخلايا ذات النواة البدائية



جليوكابسا : ٥ ميكروميتر

b Gloeocapsa, 5 µm



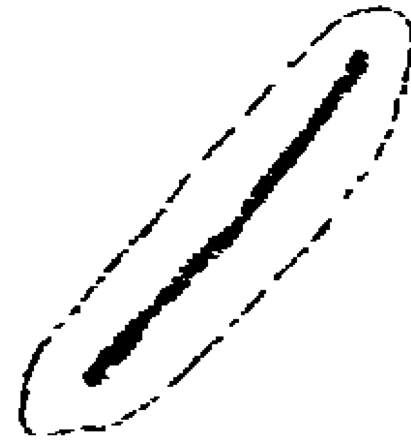
أفانوثيكا ٣ ميكروميتر

c Aphanothece, 3 µm



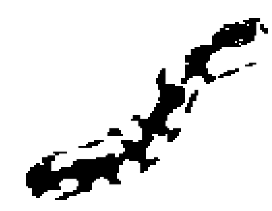
ثيوبيديا ٢ ميكروميتر

d Thiopedia, 2 µm



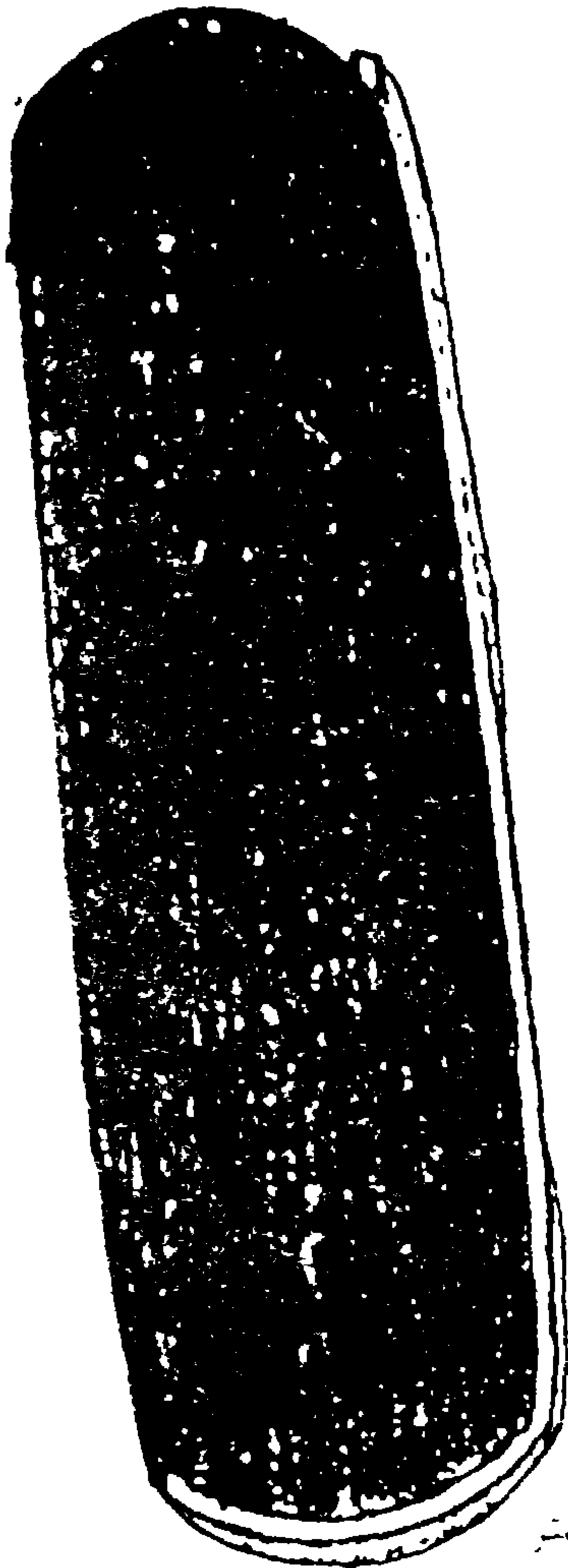
باسليس ٠٫٨ ميكروميتر

e Bacillus, 0.8 µm



ستربتوكوكاس ٠٫٥ ميكروميتر

f Streptococcus, 0.5 µm



أوسكيلاتوريا ٢٥ ميكروميتر

a Oscillatoria, 25 µm

شكل ٨ـ١ : صورة مجهرية مكبرة بنفس الدرجة لبعض ذوات النواة البدائية لايضاح الحجوم المختلفة لهذه الأحياء . والمقاسات الموضحة عليها هى مقاسات عرض الخلية .

جدول (٨-١) : حجم بعض أفراد البروتستا Protists وذوات النواة البدائية والفيروسات.

طبيعة الوحدة المقاسة	المجموعة البيولوجية	حجم الوحدة بالميكروميتر المكعب: المدى العادى للحجم	حجم الوحدة بالميكروميتر المكعب: المدى المتطرف للحجم
كائنات ذات نواه حقيقية Eucaryotes	طحالب وحيدة الخلية Unicellular algea	٥ر٠٠٠ - ١٥ر٠٠٠	٥ - ١٠٠ر٠٠٠
	بروتوزوا Protozoa	١٠ر٠٠٠ - ٥٠ر٠٠٠	٢٠ - ١٥٠ر٠٠٠ر٠٠٠
	خميرة Yeasts	٢٠ - ٥٠	٢٠ - ٥٠
كائنات ذات نواه بدائية Procaryotes (بكتيريا)	بكتيريا ممثلة للضوء Photosynthetic bacteria	٥ - ٥٠	ر١ - ٥ر٠٠٠
	سبيروكيتس Spirochetes	ر١ - ٢	ر٠٥ - ١٠٠٠
	مايكوبلازما Mycoplasma	ر١ - ١	ر٠١ - ر١
فيروسات فى الطور الخارجى Virions	فيروس سرطان الدم Leucovirus	ر٠٥٠	ثابت لكل مجموعة
	هربس Herpes	ر٠١٥	
	الانفلونزا Flue	ر٠١٠	

Procaryotes أصغر كثيرا من متوسط حجم الخلايا ذات النواه الحقيقيـة Eucaryotes · وعلى نفس النمط فان أصغر الخلايا ذات النواه البدائيـة تتماثل فى الحجم مع الفيروسات Viruses الكبيرة نوعا ·

لذلك فان رؤية بعض البكتيريا مثل بعض أنواع الركتسيا Rickettsia يمثل صعوبات خاصة عند فحصها بالمجهر الضوئى ·

ونظرا لأن البكتيريا تختلف فى أشكالها فان قياس الحجم هـــو الأفضل من قياسات أبعاد الخلايا · لذلك فاننا نوضح فى الجـــدول (٨ـ١) حجم بعض الفيروسات والتى يعرف طورها الخارجي باســم Virion (فيريون) وبعض الكائنات ذات النواه البدائية وبعض الكائنـات ذات النواه الحقيقية ·

وللمقارنة فان أصغر الكائنات ذات النواه الحقيقية Eucaryotes عبارة عن طحلب يسمى ميكروموناس Micromonas ، وهذا الكائن يحتوى على بلاستيدة Chloroplast وميتوكوندريا Mitochondrion واحـدة وهذين المكونيين مع نواة الخلية يشغلون حيز الخلية · لذلك فان أى ـ اختصار فى حجم الخلية لابد وأن يصحبه ازالة أحد المكونات الأساسيـة للخلية ، لذلك فالحد الأدنى الممكن لحجم الخلية يحدده مجموع حجـم المكونات الأساسية للخلية ·

أما فى الخلايا ذات النواة البدائية Procaryotes فان الحد الأدنى الممكن للخلية يحدده مجموع حجوم جزئيات البروتين (الانزيمات) والدهون والكربوهيدرات والأحماض النووية (RNA + DNA) اللازمـة لحمل وظائف الخلية مضافا الى ذلك الغشاء الخلوى والجدار الخلـوى للخليـة ·

أما الحد الأدنى لحجم جسيم الفيريون Virion (وهو الطـور الخارجي لجسيم الفيروس Virus) فيتحدد بمجموع حجوم كلا مـن الحمض النووى الداخل فى تركيبه + الغطاء البروتينى (المحفظة)، أى أغلفة خارجية ·

وعند عمل قياسات الحجم للبكتيريا فانه من الضرورى ذكر تركيب المستنبت الغذائي الذى نميت عليه البكتيريا قبل قياسها ، وكذلك ذكر عمر المزرعة . اذ أن كثيرا من البكتيريا تختلف فى شكلها وحجمها وفقا لتركيب البيئة وعمر المزرعة . وليس هذا هو العيب الوحيد الذى يقلل من أهمية الحجم كوسيلة للتعرف على البكتيريا ، فالكثير من المزارع النقية للبكتيريا النامية على نفس الظروف وفى نفس المستنبت وذات العمر الواحد تحتوى على خلايا مختلفة الأشكال والأحجام أيضا كما فى مزارع البكتيريا من نوع Arthrobacter .

وتؤثر النسبة بين السطح الخارجي للكائن الحى الخلوى الى حجمه تأثيرا كبيرا على سرعة التمثيل الغذائى Metabolism ، فكلما كبرت هذه النسبة كلما زاد معدل التمثيل الغذائى للكائن الحى ، والمعروف أن هذه النسبة هى أكبر ما يمكن فى خلايا البكتيريا مقارنة بجميع الكائنات الحية الخلوية الأخرى .

ولايضاح ذلك فاننا نسوق المثال التالى لتقريب الصورة الى ذهن القارىء .. فلو كان لدينا مكعبا حجمه ١ سم^{٣} وطول ضلعه ١ سم فان مساحة السطح الخارجي لهذا المكعب = عدد أوجه المكعب × مساحة الوجه الواحد . = ٦ × ١ × ١ = ٦ سم^{٢}

وتكون النسبة بين مساحة السطح الى الحجم = $\frac{٦}{١}$ = ٦

واذا قسم هذا المكعب الى ١٠٠٠ من المكعبات المتساوية ، وذلك بتقسيم كل ضلع من أضلاع المكعب الى عشرة أقسام متساوية ، طول الضلع لكل منها ١ر سم تكون مساحة أسطح جميع المكعبات الصغيرة ..

عدد أوجه المكعب الواحد × مساحه الوجه الواحد × عدد المكعبات

= ٦ × ١ر × ١ر × ١٠٠٠ = ٦٠ سم^{٢}

وتكون النسبه بين مساحة السطح فى المكعبات الصغيرة الى الحجم

= $\frac{٦٠}{١}$ = ٦٠

وكلما قل طول الضلع فى المكعبات زادت النسبة بين السطح

الخارجى الى الحجم كما هو موضح فى الجدول (٨ـ٢) ٠

جدول ٨ـ٢ : العلاقة بين حجم مكعب طول ضلعه ١ سم ومساحة السطح الخارجى له عند تجزئته الى مكعبات صغيرة :

طول ضلع المكعب سم	عدد المكعبات	مساحة سطح المكعب	الحجم	مساحة السطح / الحجم
١و٠	١ مكعب	٦سم^{٢}	١سم^{٣}	٦
١و	١٠٠٠	٦٠سم^{٢}	١سم^{٣}	٦٠
٠١و	١٠٠٠٠	٦٠٠سم^{٢}	١سم^{٣}	٦٠٠
٠٠١و	١٠^{٩}	٦٠٠٠سم^{٢}	١سم^{٣}	٦٠٠٠
٠٠٠١و	١٠^{١٢}	٦٠٠٠٠سم^{٢}	١سم^{٣}	٦٠٠٠٠

لذلك فان معدل التمثيل الغذائى فى البكتيريا أعلى بكثير عن مثيله فى جميع الكائنات الحية الأخرى ٠ والدليل على ذلك قدرة البكتيريا المخمرة لسكر اللاكتوز على هدم كميات من هذا السكر تصل الى عدة آلاف المرات قدر وزنها فى خلال ساعة واحدة من الزمن ٠ واذا قدرنا الوقت الذى يكفى لكى يستهلك الانسان كمية من السكر تقدر بألف مرة قدر وزنه لاحتاج الى فترة تصل الى حوالى ربع مليون ساعة أو بمعنى آخر لاحتاج الى مدة تزيد عن متوسط عمره ٠ ومن ذلك يتضح الدور الهام لهذه الكائنات الدقيقة فى تحليل المواد العضوية الميتة والناتجة عن فضلات الانسان والحيوان لاعادة العناصر الداخلة فى تركيبها الى الطبيعة مرة ثانية ٠ وذلك حتى يمكن للحياة أن تستمر عن طريق استمرار دورة العناصر المختلفة ٠

ونظرا لأن البكتيريا صغيرة جدا فاننا نستخدم لقياساتها وحدات قياسية طولية خاصة تسمى الميكروميتر Micrometer ويرمز له بالرمز m للروهى تساوى $\frac{1}{1000}$ من المليمتر (أنظر الجدول ٨ـ١). ويمكن قياس حجم البكتيريا بعد قياس قطرها أو أبعادها • وتختلف الخلية المصبوغة في الحجم عن الخلية الحية نظرا لأن عمليات التثبيت والتخفيف التي تجرى على الغشاء تؤدى الى انكماش الخلية البكتيرية •

ب ـ شكل البكتيريا Shape of bacteria

لكل بكتيريا شكل محدد مميز يظل ثابتا الى حد كبير ، بالرغم من أن الشكل الظاهرى يتأثر الى حد ما بالبيئة المحيطة • وتوجد خلايا البكتيريا اما منفردة أو تتجمع في تجمعات مختلفة كما سيلى ذكره ، ولكن يبقى كل فرد منها مستقلا في عملياته الحيوية • وتظهر الخلايا البكتيرية في شكل من الأشكال الآتية :

أولا : الشكل الكروى Coccus وجمعها Cocci

وهى البكتيريا الكروية Spheres ويتراوح قطر هذه الخلايا بين ١,٠ ـ ٤ ميكروميتر Micrometer ، والخلايا الكروية قد تتجمع تبعا لنظام تكونها نتيجة للانقسام كما يلى :

(١) البكتيريا الكروية في سلاسل من خليتين Diplococcus arrangements : وهى الخلايا التى تظل متجمعة في أزواج بعد الانقسام ومن أمثلتها البكتيريا المسببة لمرض الالتهاب الرئوى Streptococcus pneumonia والذى يطلق عليه Pneumococcus (شكل ٨ـ٢أ) •

(٢) البكتيريا الكروية في سلاسل أكثر من خليتين Streptococcus arrangements وهى الخلايا التى يستمر فيها الانقسام في اتجاه واحد متعامد على طول السلسلة دون انفصال الخلايا فيتكون ما يعرف

بالشكل السبحى (شكل ٨ــ٢ب) ، لذلك يطلق اسم Streptococcus ومصدرها كلمة Streptos اليونانية والتى تعنى سبحة أو خيط ، ومن أمثلة هذه الكائنات Str. Lactis وكذا الميكروب Str. pyogenes والأول يستخدم بكثرة فى صناعات منتجات الألبان حيث يحول سكر اللبن (اللاكتوز) الى حمض اللاكتيك ، أما الثانى فيصيب الانسان والحيوان عن طريق الجروح ، وينمو فى الدم وقد يؤدى الى الموت اذا لم يعالج ٠

(٣) البكتيريا الكروية المرتبة على شكل صفائح Sheets : وهى البكتيريا التى يحدث فيها الانقسام فى اتجاهين متعامدين دون انفصال الخلايا مكونا فى النهاية صفائح Sheets (شكل ٨ــ٣) كما فى البكتيريا من نوع Lampropedia ٠

(٤) البكتيريا الكروية المرتبة فى صورة مربعات Tetrades : وهى بكتيريا تنقسم فى اتجاهين متعامدين ، وتظل كل أربعة خلايا دقيقة ملتصقة ببعضها مكونة مجاميع رباعية ، وأحيانا تسمى Tetracocci أو Pediococci .

(٥) البكتيريا الكروية المرتبة فى صورة مكعبات Cubical packets : وهى بكتيريا تنقسم فى ثلاثة اتجاهات متعامدة مكونة مكعبات من ثمان خلايا ملتصقة ببعضها ، وأشهر أمثلتها أفراد الجنس Sarcina .

(٦) البكتيريا الكروية المرتبة فى أشكال عنقودية (غير منتظمة) Staphylococcus arrangement : وهى خلايا البكتيريا التى تنقسم فى اتجاهات متعددة وتظل ملتصقة ببعضها بعد الانقسام مكونة أشكالا عنقودية (تشبه عنقود العنب) ومن أمثلتها Staphylococcus aureus والمسئول عن اصابات الجلد بالدمامل وتلوث الجروح ٠ (شكل ٨ــ٢ د) ٠

(٧) البكتيريا الكروية التى لا يميز فيها أى من الترتيبات السابقة نتيجة لانفصال الخلايا عن بعضها بعد الانقسام مباشرة ٠

شكل ٨ـ٢ : رسم تخطيطى يوضح التجمعات المختلفة للبكتيريا الكروية :





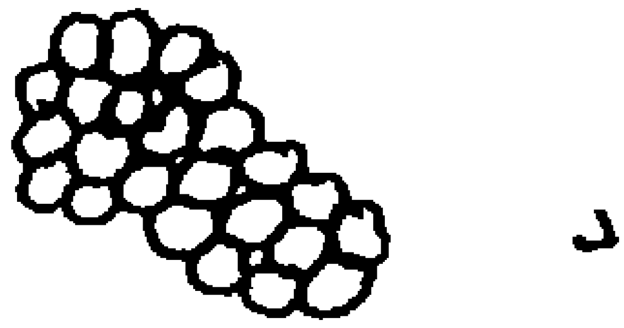
أ ـ تجمع Diplococcus مثل ما يحدث فى Streptococcus pneumonia



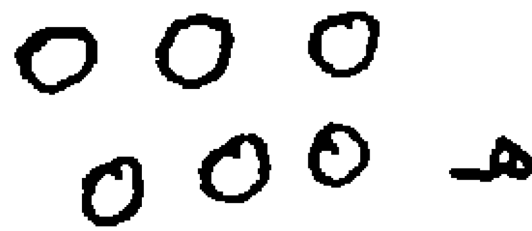
ب ـ تجمع سبحى مثل ما يحدث فى Streptococcus lactis



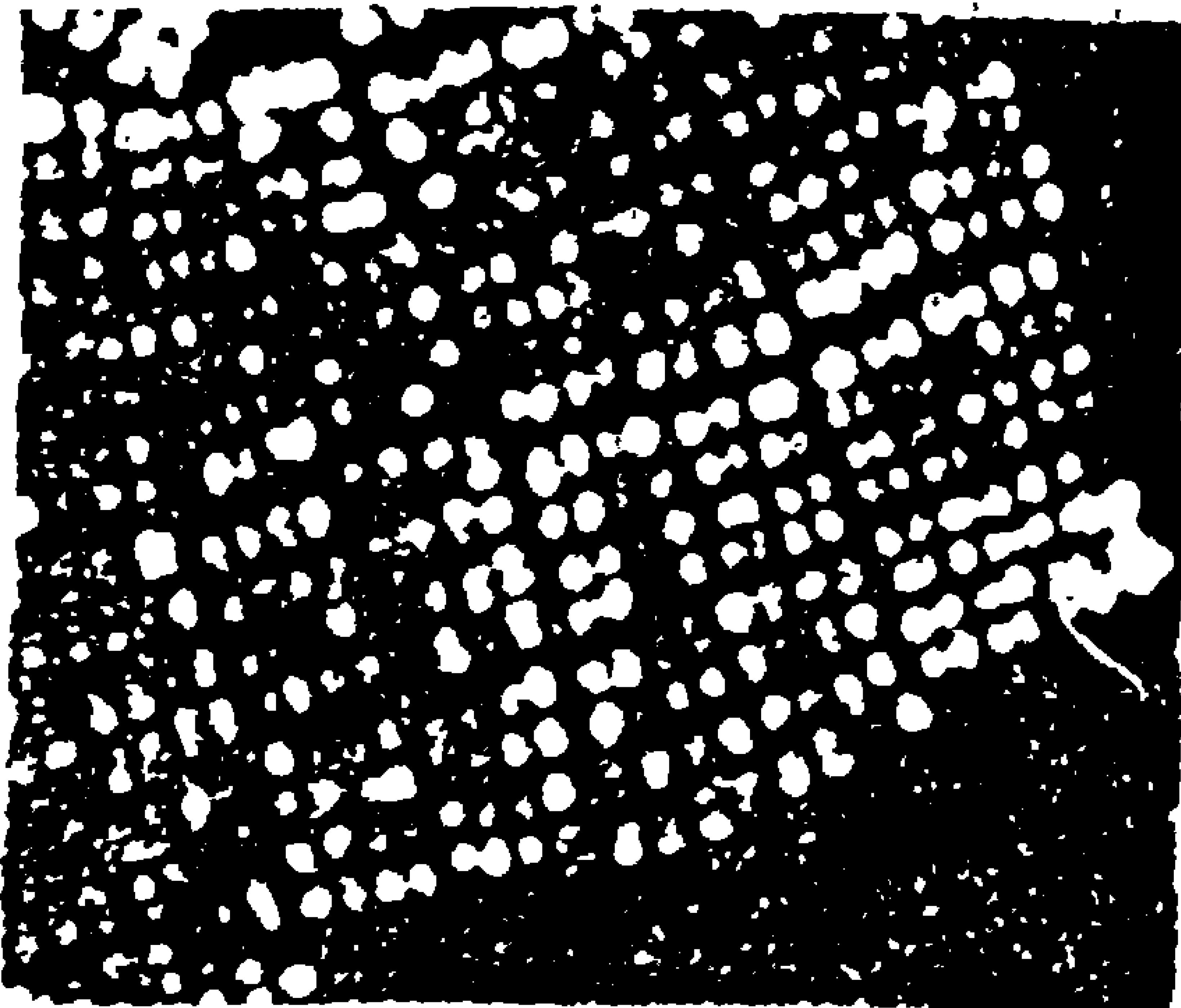
جـ ـ تجمع فى شكل مكعبات مثل ما يحدث فى Sarcinia



د ـ تجمع فى شكل عنقودى مثل ما يحدث فى Staphylococcus aureus



هـ ـ البكتيريا الكروية التى لا يميز فيها أى نوع من التجمعات السابقة نتيجة انفصال الخلايا عن بعضها بعد الانقسام مباشرة.



شكل ٨ـ٣ : صورة بالمجهر الالكترونى لتجمع البكتيريا الكروية على صورة صفائح مثل ما يحدث فى البكتيريا Lampropidia

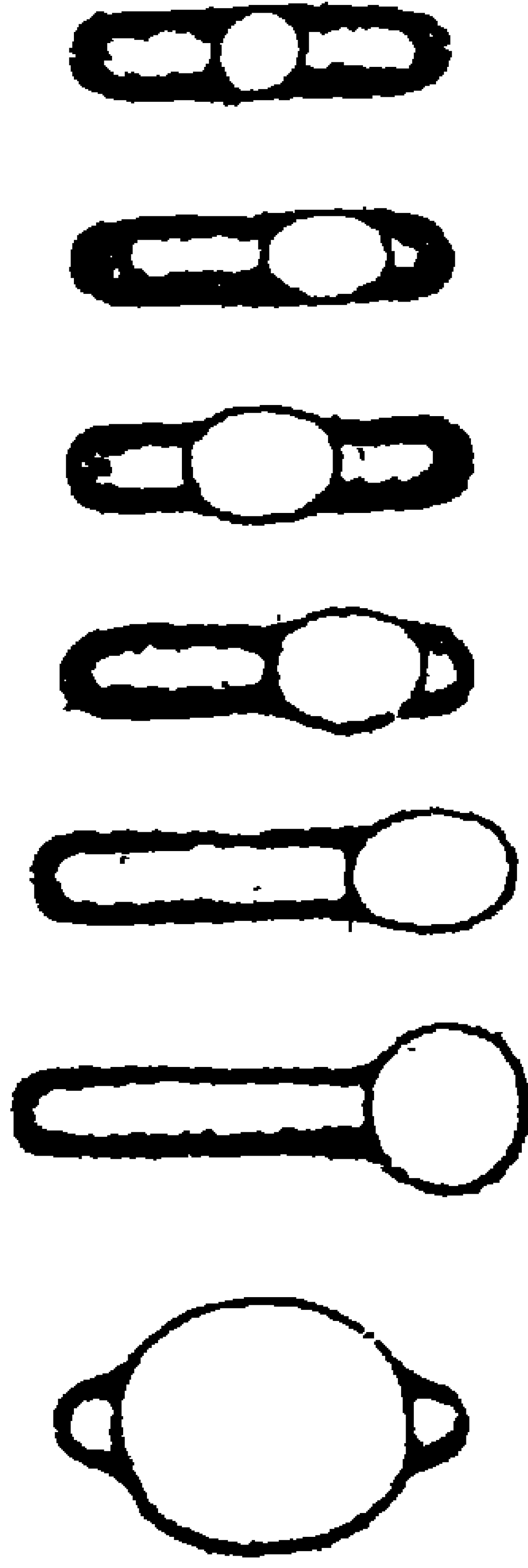
والخلايا الكروية ليست دائما مستديرة استدارة كاملة ، ولكنها قد تستطيل أو تتبعج أحيانا ، وخاصة عندما تكون فى أزواج أو سلاسل.

ثانيا : الشكل العصوى المستقيم Bacillus

وهى البكتيريا الأسطوانية Cylendrical أو العصوية Rod shapped وتكون أطرافها مستديرة أو مائلة للاستدارة أو مستقيمة ، لذلك فبعضها يظهر على شكل برميلى أو بيضاوى ، وهى أما منفردة أو فى أزواج أو سلاسل طويلة ٠ وقد تكون سلاسل مكونة على محورها الطولى ، كما يحدث فى أفراد الجنس Bacillus (شكل ٨ــ٤ أ) أو قد تكون السلاسل مكونة نتيجة لالتصاق الخلايا طولا بجانب طول على محورها العرضى ، كما يحدث فى أفراد الجنس Caryophanon (شكل ٨ــ٤ب).

كما أن تكون الجراثيم (الأبواغ) الداخلية فى أفراد البكتيريا العصوية ومكان الجرثومه ، ثم انبات الجرثومة يضيف أشكالا ظاهرية أخرى ، فعندما تتعرض الخلايا الخضرية لظروف بيئية غير مناسبة ، فانها تتجرثم. وأحيانا تتكون الجرثومة Spore فى وسط الخلية (وسطية) أو فى طرف الخلية (طرفية) أو بين الوسط والطرف (تحت طرفية) وتختلف شكل الجراثيم المتكونة ، فقد تكون دائرية أو بيضاوية ٠ وقد تنتفخ الجراثيم المتكونة فى كل حالة أو تتعرض بقايا الخلايا الأصلية للجفاف مما يسبب انكماشها مع بقاء الجرثومة فى حجمها الطبيعى (شكل ٨ــ٤ جـ) ٠

وعند انبات الجراثيم Spores تتكون خلية خضرية شبيهة بالخلية الخضرية الأصلية ، كما يشاهد فى الشكل (٨ــ٥) ٠ وفى حالة خاصة تتكون خلايا نصف حلقية كما فى حالة <u>Bacillus</u> <u>circulans</u> (شكل ٨ــ٦) ٠ وأهم أجناس البكتيريا العصوية المتجرثمة هى الجنس باسيللس Bacillus والجنس كلوستريديم Clostridium .

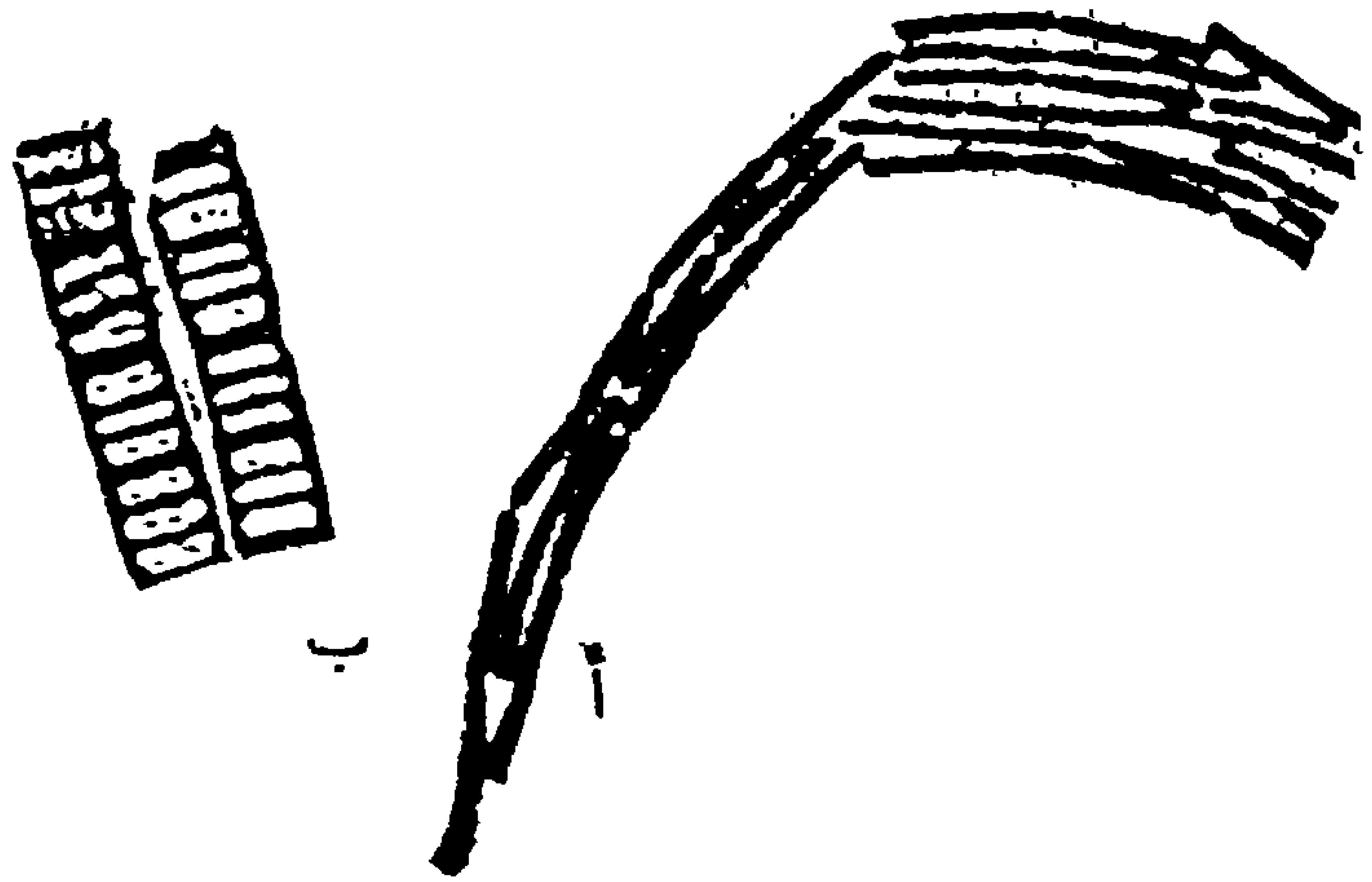


شكل ٨-٤ : البكتيريا العصوية :

أ- سلاسل متكونة على طول المحور الطولى كما فى Bacillus.

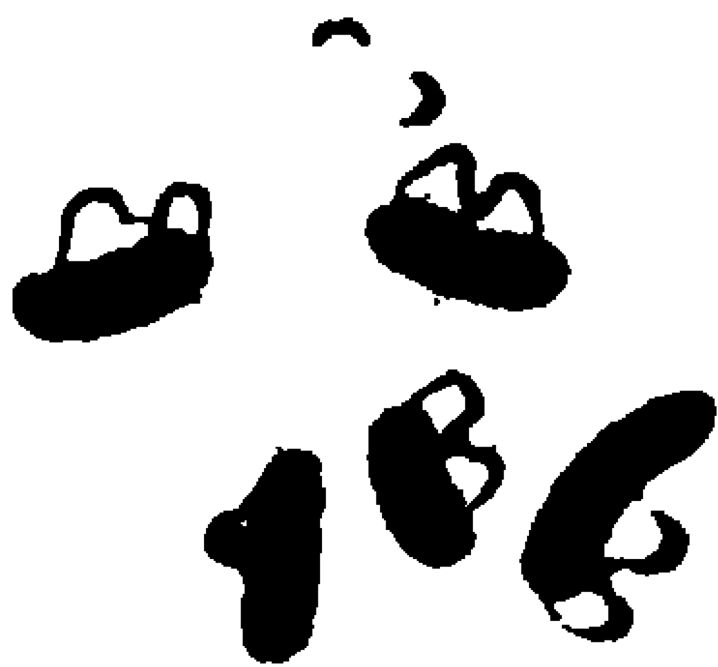
ب - سلاسل متكونة على طول المحور العرضى كما فى Caryophanon.

جـ - جراثيم فى أوضاع مختلفة من الخليـــــة البكتيرية .





شكل ٨-٥ : صورة للمجهر الضوئى توضح انبات الجراثيم فى البكتيريا المعروفه باسيلس بوليمكسـا Bacillus polymyxa حيث تعطى الجرثومــه خلية خضرية تشبه الخلية الاصلية الناتجه عنها .



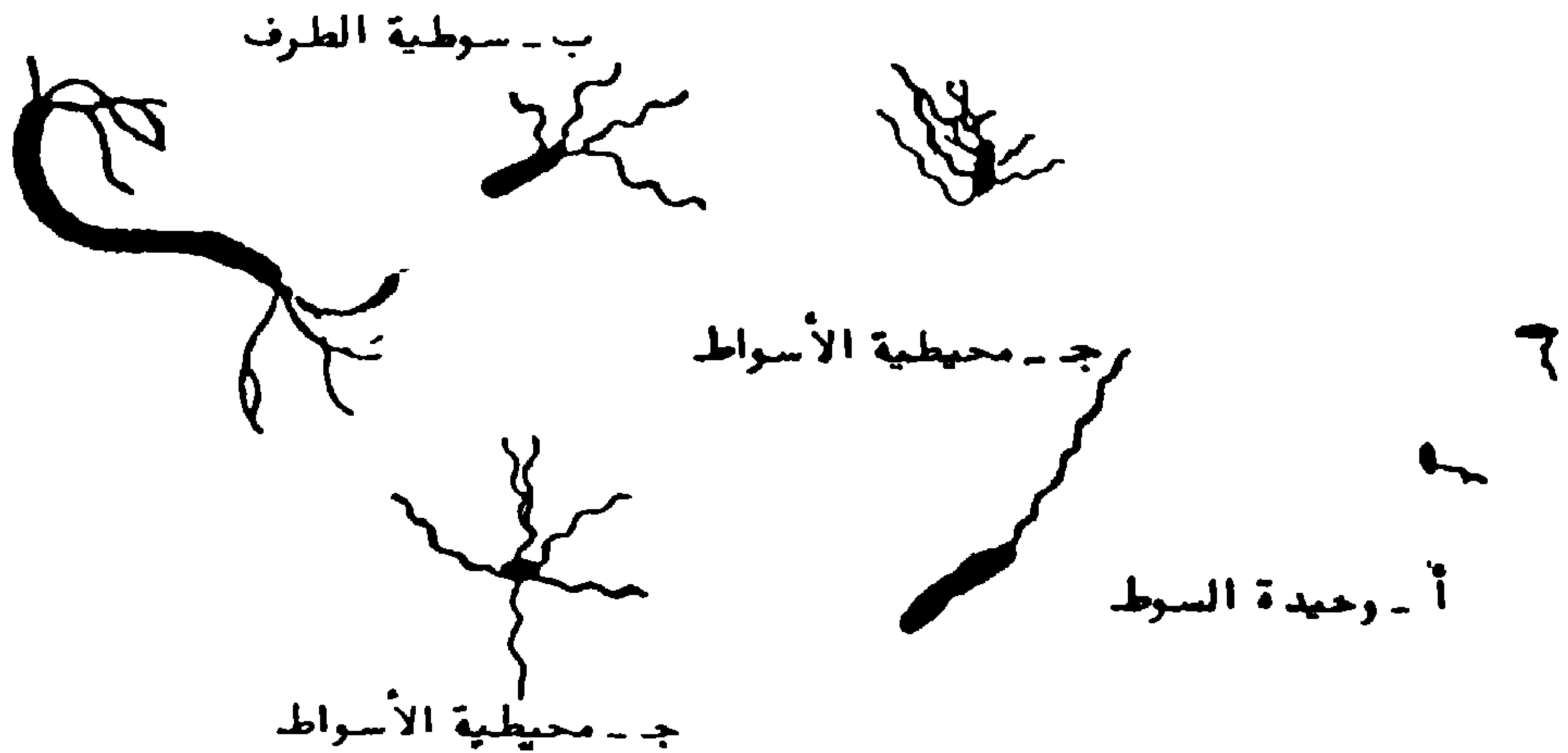
شكل ٨-٦ : الخلايا الخضرية الناتجة عن انبات جراثيم باسيلس سيركيولانز Bacillus circulans

ويختلف طول البكتيريا العصوية ، فبعضها يكون طولها أكبر قليلا من عرضها ، فيسمى عصوي قصير كما فى بكتيريا القولون المعروفة Escherchia coli وبعضها يكون طولها أكبر من عرضها بكثير ، فيسمى عصوي فقــط كما فى أفراد جنس Bacillus .

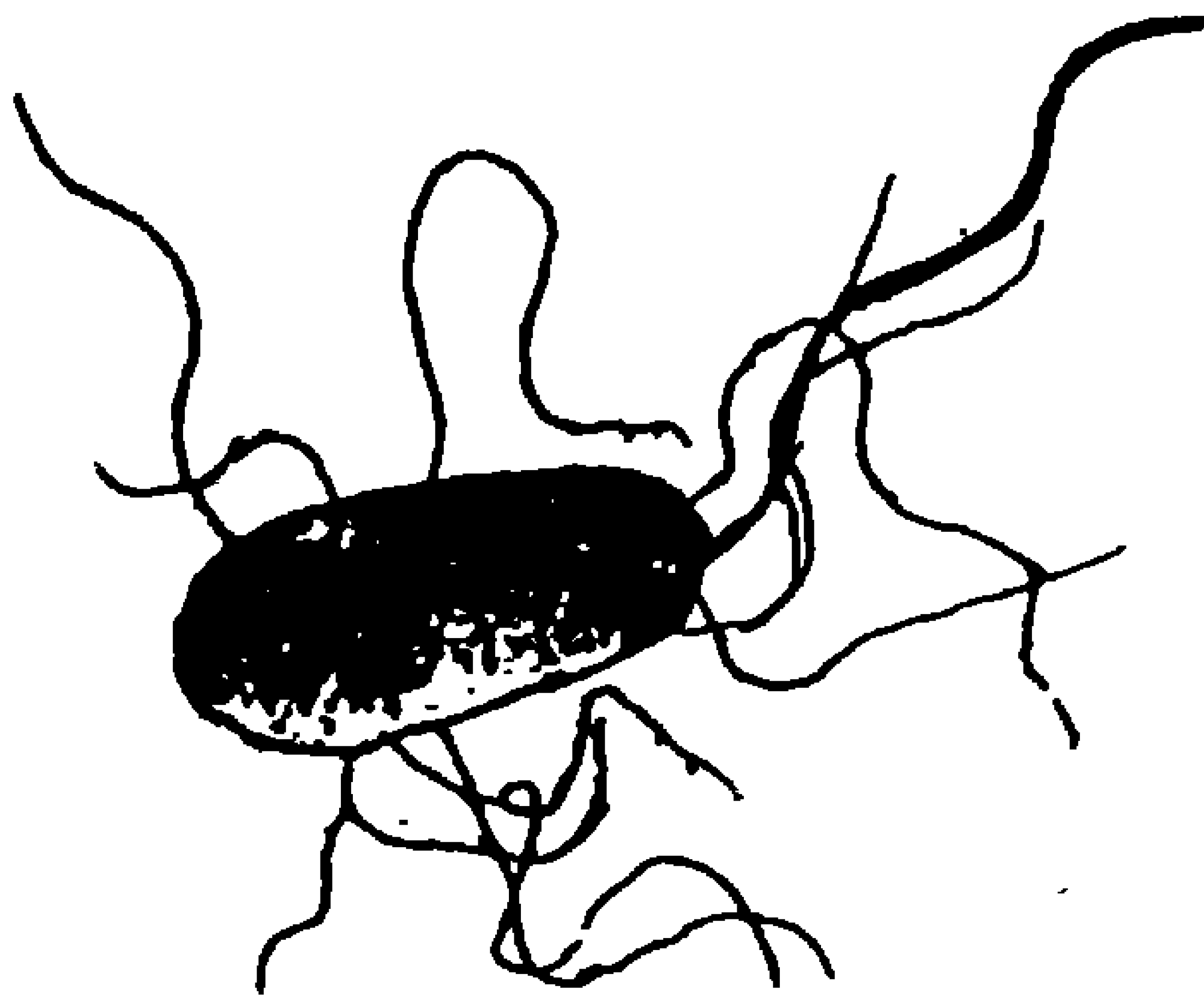
وتميز البكتيريا العصوية أيضا فى كل مجموعة سواء السالبة أو الموجبة لصبغة جرام على أساس وجود أو عدم وجود أعضاء للحركة والمعروفــة باسم الأسواط Flagella (ومفردها سوط) Flagellum . فالبكتيريا التى تحمل سوطا طرفيا واحدا على أحد طرفيها تسمى البكتيريا وحيدة السوط Monotrichous (شكل ٨—٧) مثل بعض البكتيريا التابعة لجنس سودوموناس Pseudomonas . أما البكتيريا التى تحمل مجموعة من الأسواط Tuft of flagella على أحد طرفيها فتسمى طرفية الأسواط Lophotrichous كما فى بعض البكتيريا التابعة لنفس الجنس المذكور أيضا ، وقــد يكون جميع سطح الخلية ، وفى هذه الحالة تسمى بالبكتيريا محيطيــة الأسواط Peritrichous كما فى الشكل (٨—٧) والذى يوضح الأنظمة المختلفة لتوزيع الأسواط على الخلايا .

وقد اكتشف حديثا بعض أنواع البكتيريا التى تحتوى على أنظمــة مختلطة من الأسواط Flagellation كما يشاهد فى الشكل (٨—٨) حيث يوجد السوط الطرفى والذى عادة ما يتميز بزيادة سمكه عن باقى الأسـواط ، فالأسواط التى توجد عادة فى البكتيريا طرفية الأسواط Lophotrichous والبكتيريا محيطية الأسواط Peritrichous تكون أقل سمكا من الأســواط الموجودة فى البكتيريا وحيدة السوط Monotrichous .

ولا تنحصر الزوائد الموجودة على السطح الخارجى للخلية علـــى أعضاء الحركة ، بل يوجد زوائد أخرى خاصة فى بعض أنواع البكتيريــا العصوية تسمى الـ Pili ومفردها Pilus . وأهم أنواع هذه الزوائــد هى الزائدة الجنسية (شكل ٨—٩) Sex pili وقد تحتوى الخليــة على (١—٥) زوائد جنسية ، وتعمــل كقناه ينتقل خلالها المــواد الوراثية من الخلية البكتيرية المذكرة الى الخلية البكتيرية المؤنثة أثنــاء



شكل ٨ـ٧ : صورة بالمجهر الضوئى لبكتيريات مختلفة
أـ البكتيريا وحيدة السوط Monotrichous تحمل سوطا واحدا فى طرف الخلية ٠ ب ـ البكتيريا طرفية الأسواط Lophotrichous تحمل مجموعة أسواط على واحد أو كلا الطرفين للخلية ٠
جـ ـ البكتيريا محيطية الأسواط Peritrichous تحمل الأسواط على جميع سطح الخلية.



شكل ٨ـ٨ : صورة بالمجهر الالكترونى (١٦٦٠٠ مرة) توضح بكتيريا ذات أنظمة سوطية مختلطة ، فبينما تحتوى على سوط وحيد طرفى (المميز بزيادة سمكه) فهى أيضا محيطية الأسواط (الأقل سمكا) ٠



شكل ٨-٩ : التزاوج فى البكتيريا :
أ- صورة بالمجهر الالكترونى لتزاوج بين خلية مذكرة (السفلية) وخلية مؤنثة (العلوية) عن طريق زائدة جنسية Sex Pilus مصبوغ بفيروس متخصص لهذه الزوائد وتحتوى الخليه المذكرة على العديد من الزوائد العاديـة غير الجنسيه التى لا يلتصق بها الفيروس.
ب - صورة بالمجهر الالكترونى لتزاوج بين خلية مذكرة وخلية مؤنثة عبر زائدة جنسيه . Sex Pilus



شكل ٨-١٠ : صورة بالمجهر الالكترونى لخلية فى مرحلة الانقسام من نوع Hfr من بكتيريا القولون E.coli تظهر الزوائد على الخلية وهى ثلاثة أنواع:



أ- الزوائد الطولية المنحنية السميكة وهى الأسواط.
ب - الزوائد القصيرة الرفيعة وهى الزوائد العادية.
جـ - الزوائد الطويلة المستقيمة المصبوغة بالفيروس الخاص بالزوائد الجنسيه . وهى تلك الموجودة فى الجهة اليسرى العلوية من الخلية وهى الزوائد الجنسية . Sex pilus.

عملية التزاوج Conjugation والتى ستشرح فيما بعد · على أن الخليـة قد تحتوى على العديد من الزوائد العادية Ordinary Pili or Fimbriae (شكل ٨-١٠) وهى أقل سمكا من الزوائد الجنسيـة Sex Pili · وفى كثير من الأحيان قد تحتوى الخلية على النوعين من الزوائد العادية والجنسية ·

ثالثا : الشكل العصوى المنحنى : Curved Rods

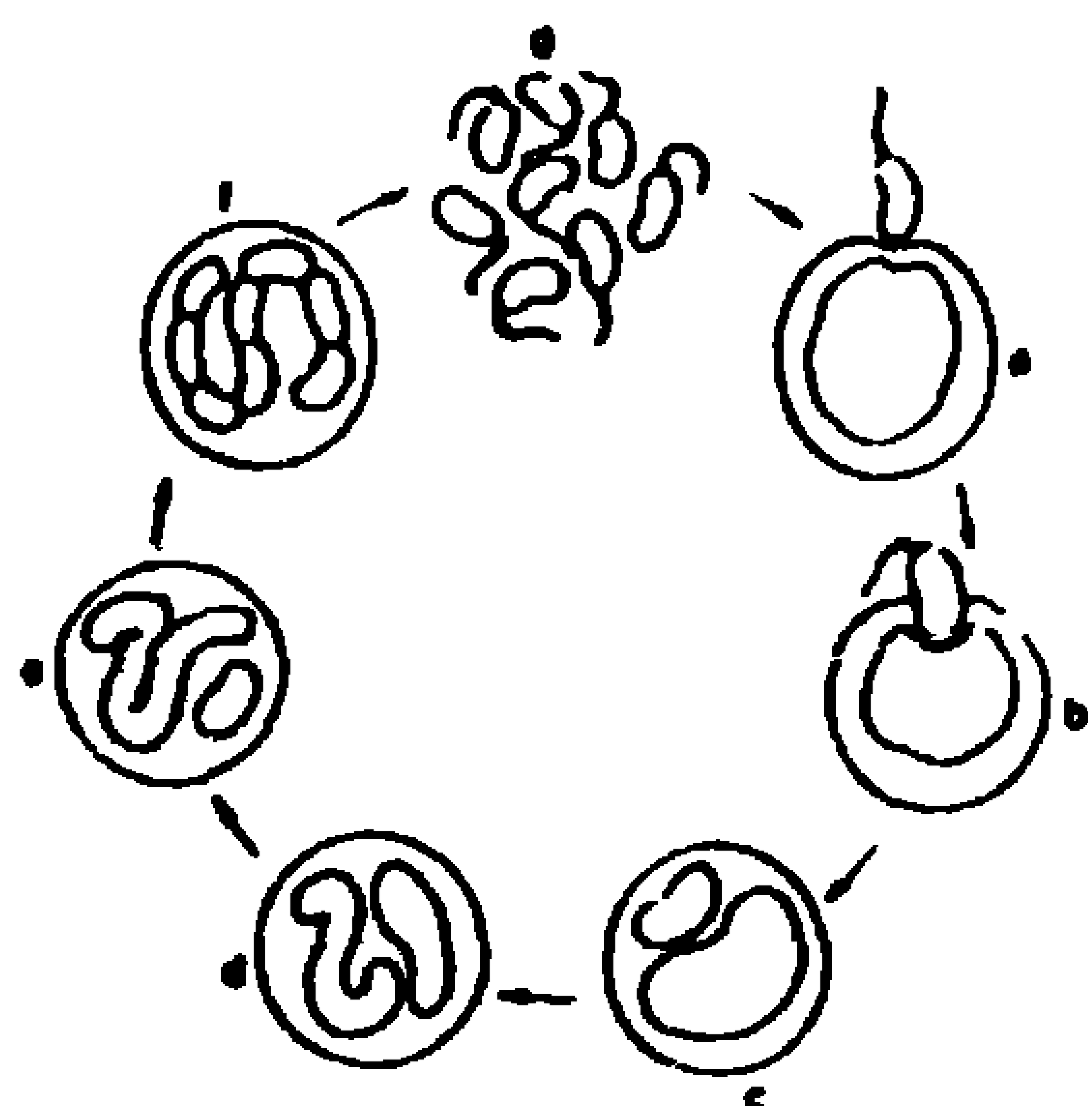
وتشمل عدة مجموعات كالآتـى :

(١) خلايا هذه المجموعة من البكتيريا قد تحتوى على انحناءة واحدة Single curve فتبدو الخلية مثل حرف " و " وتعرف هذه المجموعة باسم البكتيريا الضمية Comma shapped أو Vibrios وتشمل هـذه المجموعة البكتيريا المسببة لمرض الكوليرا Vibrio cholerae وكذلك البكتيريا المعروفة باسم Bdellovibrio والتى تهاجم البكتيريا الأخرى وتتكاثر بداخلها وتقضى عليها (شكل ٨-١١) وكذلك البكتيريا المعروفة باسم Caulobacter (شكل ٨-١٢ أ) والمزودة بزوائد خاصة لتثبيت نفسها بالأسطح الناعمة Hold fast يمكنها من تكوين أشكال مجهرية (ميكروسكوبية) تشبه الورد Rosettes (وريدة) على سطح الشرائح الناعمة (شكل ٨-١٢ب) ·

(٢) البكتيريا العصوية التى تحتوى خلاياها على عدة انحناءات حتى تبدو كاللولب الحلزونى ، ويطلق عليها اسم Spirillum وجمعها Spirilla ويوجد منها عدة أنواع كالموضحة بالشكل (٨-١٣) ، كما ينتمى أيضا لهذا النوع من الخلايا المنحنية البكتيريا المسماه الاسبيروكيتا Spirochetes (شكل ٨-١٤) وأكثرها شهرة تلك البكتيريا المسئولة عن مرض السيلان Treponema pallidum ·

رابعا : البكتيريا الخيطية : Filamenteous bacteria

وتسمى البكتيريا الخيطية باسم الأكتينوميسيتس Actinomycetes



شكل ٨ـ١١ : رسم توضيحى لبكتيريا Bdellovibrio التى تهاجـــم بكتيريا القولون E. coli وتتكاثــر بداخلها





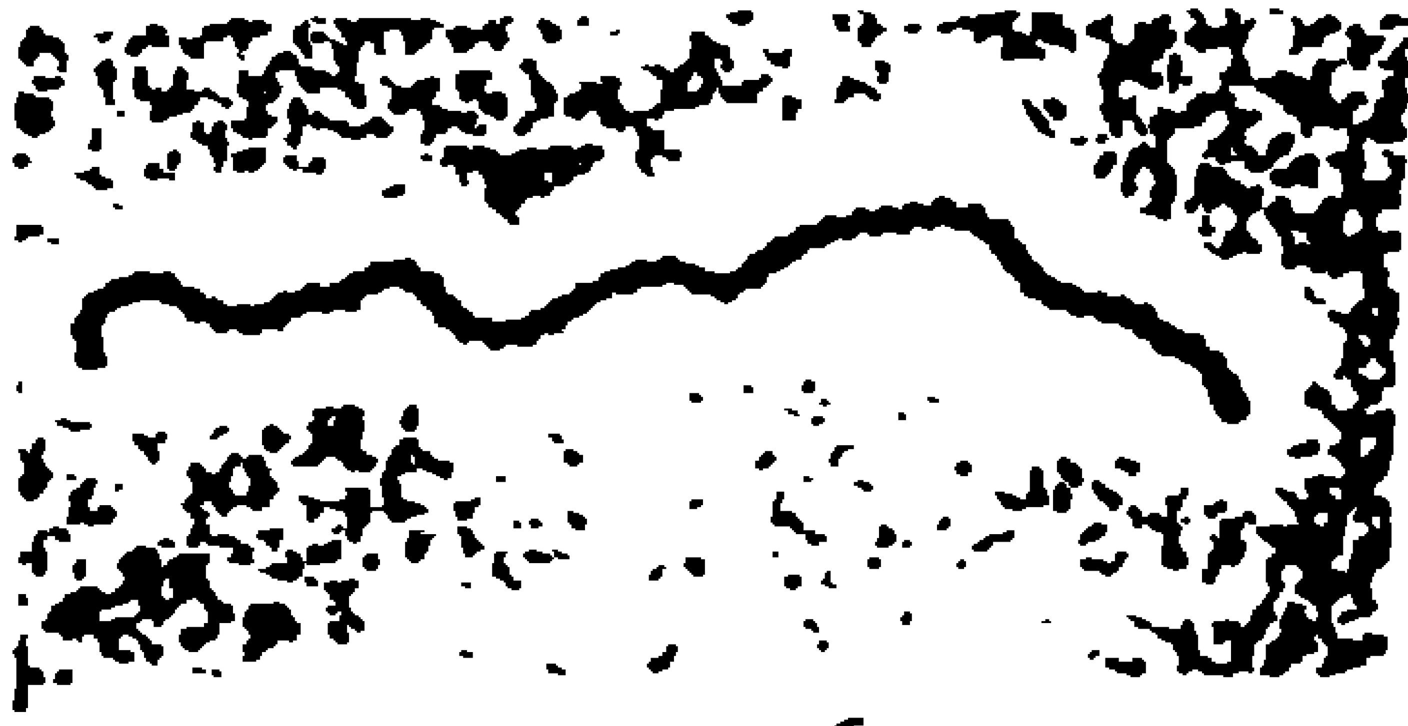
شكل ٨ـ١٢ : صورة للبكتيريا المنحنية Caulobacter

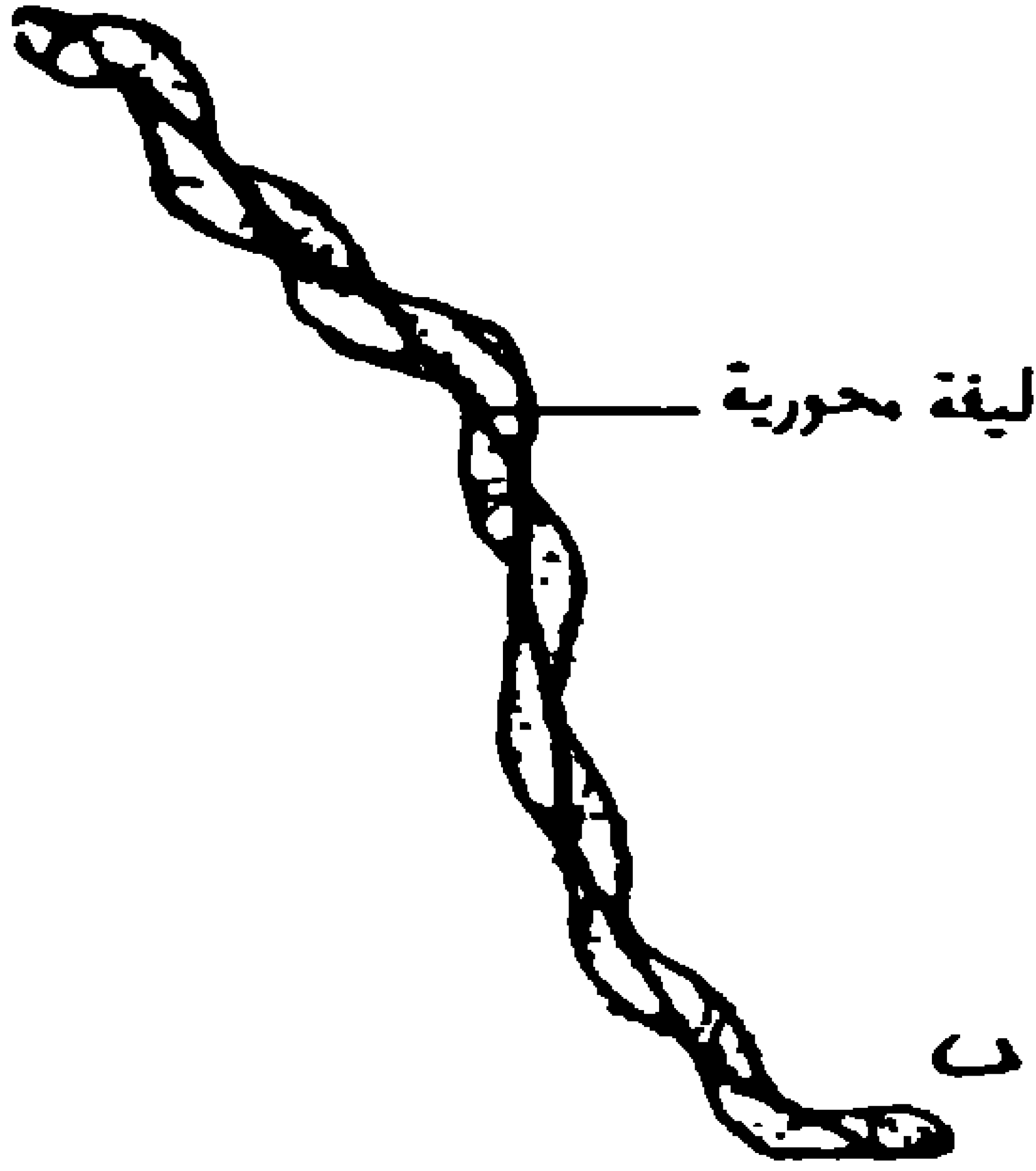
أ ـ صورة بالمجهر الالكترونى لتوضيح الانحناء والزائدة .

ب ـ صورة بالمجهر الضوئى لتوضيح تكوين الوريدة

شكل ٨ـ١٣ : صورة بمجهر التبايــن للبكتيريا Sprillum volutans



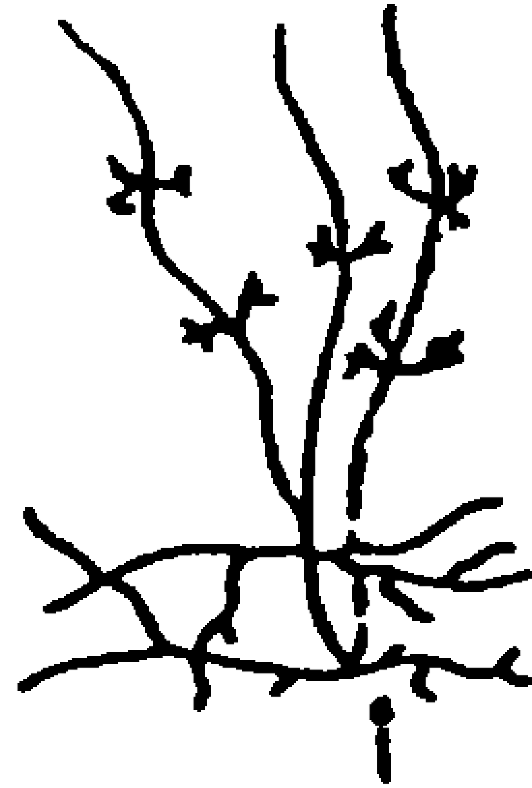


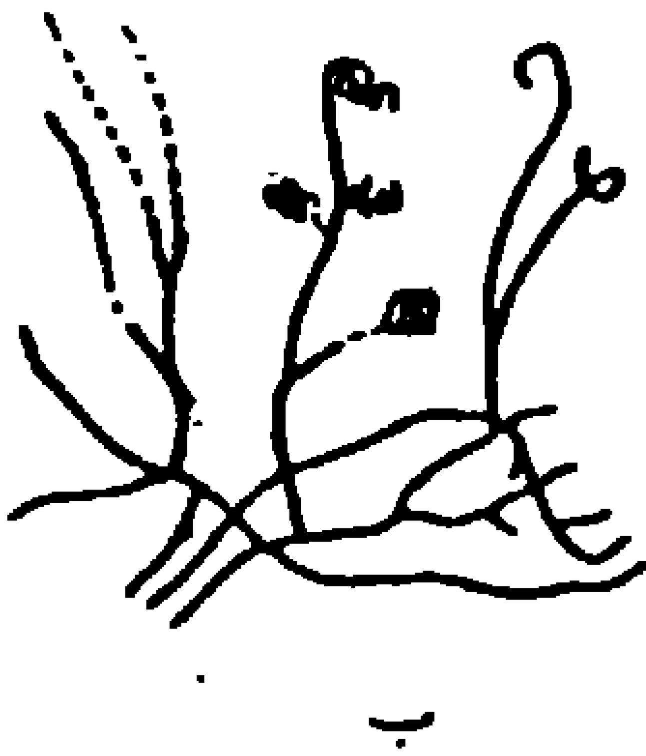


شكل ٨ـ١٤ : أمثلة لنماذج من بكتيريا الاسبيروكيتا :

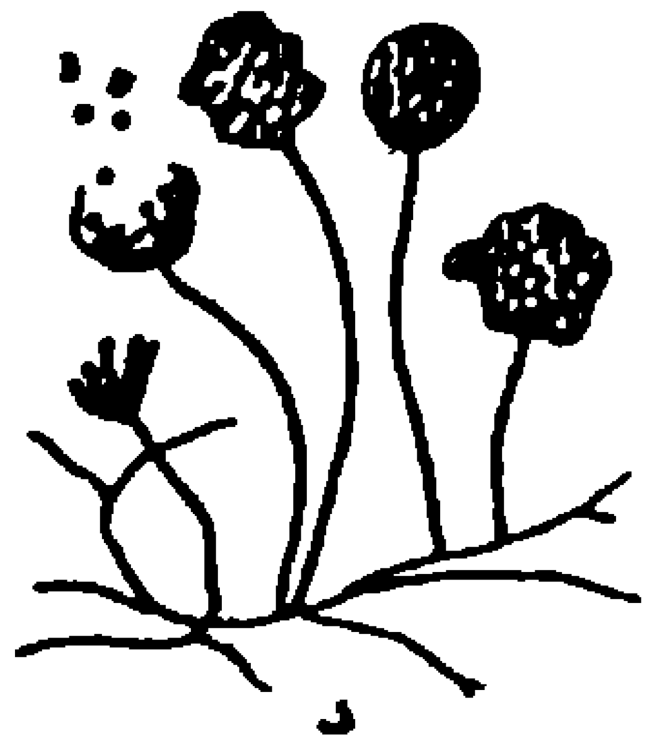
أـ Spirochaeta plicatilis

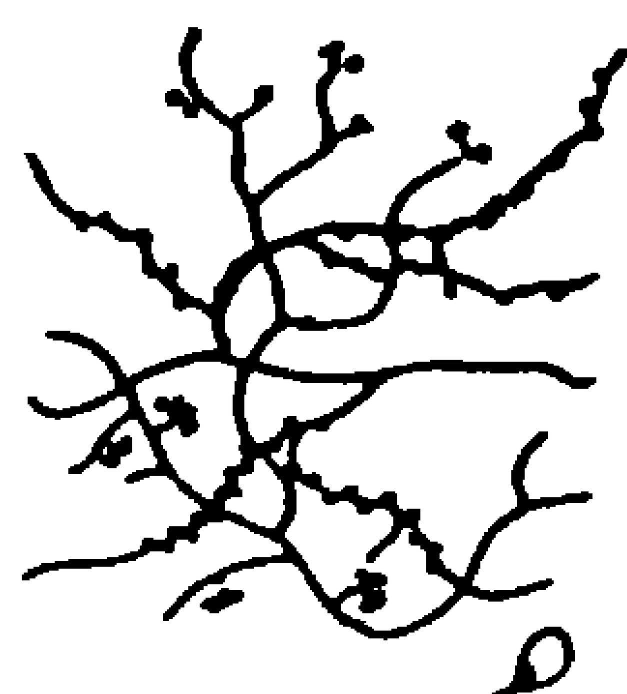
ب ـ Spirochaeta zuelezerae

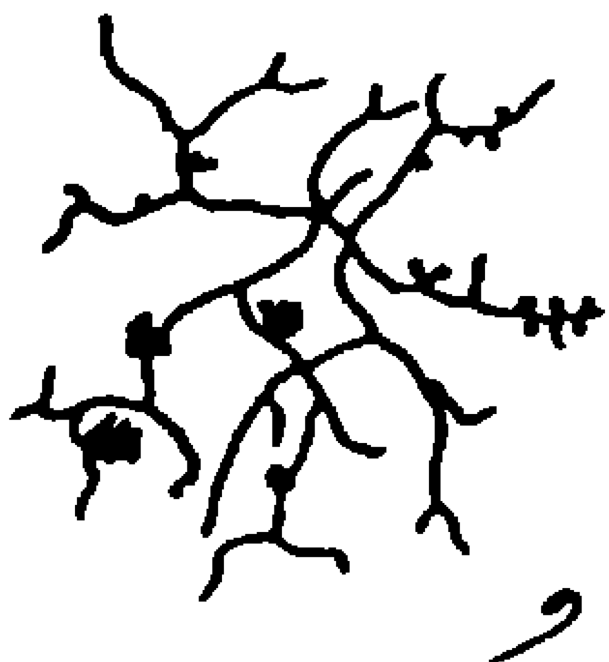












شكل ٨ـ١٥ :

ـ أشكال توضيحية لطريقة نمو بعض الأكيتينوميسيتس الحقيقية ٠

فى بعض الأجناس تتكون الجراثيم على هيفات هوائية خاصة
أ ، ب ، جـ ، د

فى بعض الأجناس تتكون الجراثيم على الميسليوم الأساسى
هـ ، و

وهى مجموعة كبيرة جدا من الأحياء ذات النواة البدائية وتشبه الفطريات فى قدرتها على تكوين الميسليوم Mycelium والذى يتكون من خيوط عديدة تسمى الهيفات Hyphae • وهيفات البكتيريا تقل فى السمك كثيرا عن مثيلتها فى الفطريات• فسمك هيفات البكتيريا لا تزيد عن ١ر٥ ميكرميتر، بينما يصل سمك هيفات الفطر الى ٥ ميكروميتر (الميكروميتر = ١ x ١٠ $^{-٦}$ من المتر) . والرائحة التى يشمها الانسان للتربة الزراعية ترجع بالدرجة الأولى لرائحة هذه المجموعة من الأحياء، فهى منتشرة فى الأراضى الزراعية بكثرة شديدة • وعند تنمية البكتيريا التابعة لهذا القسم يمكن تمييز مجموعتين أساسيتين منها :

(١) الأكتينوميستس البدائية Proactinomycetes

وفى هذه المجموعة يبدو الميسليوم بدائيا وغالبا يتكسر Massive Fragmentation مكونا خلايا عصوية أو حتى كروية ، وفى مثل هذه الحالة كثيرا ما يتم الخلط بين أفراد هذه المجموعة من البكتيريا وأفراد البكتيريا العصوية من جنس Bacillus العادية •

(٢) الأكتينوميستس الحقيقية Euactinomycetes

وفيها يتكون ميسليوم دائم (ثابت) ولا يتكسر (شكل ٨_١٥) مختلفا بذلك عن المجموعة الأولى • ويتم التكاثر بواسطة جراثيم (أبواغ) Spores خاصة ، ويمكن الاشارة الى أبسط طرق تكوين الجراثيم (الأبواغ) فى هذه المجموعة والتى يمثلها أفراد الجنس ميكرومونو سبورا Micromonospora وفيها تتكون جراثيم فردية فى أطراف الهيفات الزاحفة التى تمثل الميسليوم الخضرى Vegetativa mycelium لهذا الجنس ولا يكون أفراد هذا الجنس هيفات هوائية _ أما الجنس ستربتوما يسس Streptomyces (وهو يتبع المجموعة الثانية أيضا) فلا تتكون الجراثيم (الأبواغ) أبدا على الميسليوم الخضرى بل تتكون هيفات خاصة تعرف بالهيفات الهوائية تتكون فى أماكن النمو الكثيف للميسليوم الخضرى ، وهذه الهيفات تحمل

فى نهايتها سلسلة من الجراثيم تسمى الكونيديا Conidia (شكل ٨ـ١٦) •

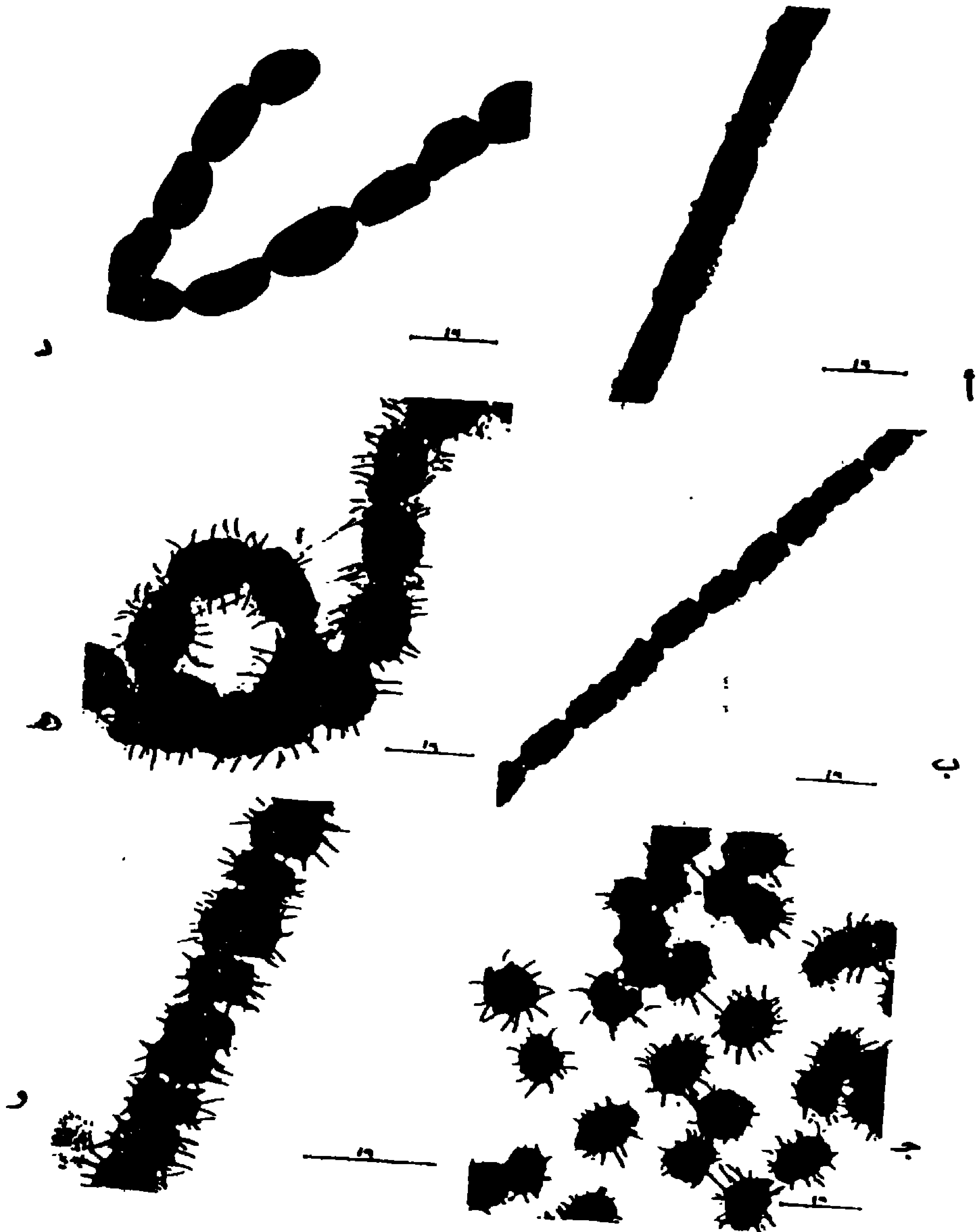
ومن الأجناس التابعة للأكتينوميسيتس الحقيقية أيضا جنس ستربتوسبورانجيم Streptosporangium وأفراد هذا الجنس تكون الجراثيم (الأبواغ) داخليا فى انتفاخات (أكياس اسبورانجية Sporangia) فى نهاية الهيفات الهوائية •

وبالرغم من أن جراثيم بكتيريا الأكتينوميسيتس(الحقيقية أوالبدائية) غير متحركة بصفة عامة ، فان بعضها يكون جراثيما أسبورانجية متحركة بالأسواط Flagella مثل أفراد الجنس Dermatophilus التابعة للأكتينوميسيتس البدائية Proactinomycetes.

وعلاوة على الأكتينوميسيتس Actinomycetes فان هناك مجموعة أخرى من البكتيريا الخيطية ذات قدرة محدودة على التفرع وتشمل الميكوبكتيريا Mycobacteria والكورينى بكتيريا Corynobacteria والنوكارديا Nocardia.

وبالرغم من أن خلايا البكتيريا التابعة لهذه المجموعة تبدو عصوية الشكل •• الا أنها ذات ميل لتكوين ميسليوم بدائى قابل للتجزؤ الى خلايا عصوية •

وتتميز خلايا الميكو بكتيريا عن باقى البكتيريا بمقاومتها للأحماض Acid Fastness ويمكن شرح هذه العبارة فى أن خلايا الميكو بكتيريا التى سبق صبغها بمحلول فينولى ساخن من الفوكسين القاعدى Basic fuchsin تكتسب لونا أحمر لا يزول حتى بمعاملته بالأحماض المعدنية • وهذه الخاصية (المقاومة للأحماض Acid fastness) مرتبطة باحتواء الخلايا على محتوى كبير من الليبدات المعقدة فى الجدار الخلوى مما يجعل الخلايا شمعية طاردة للمياه Hydrophobic ولذلك تبدو المستعمرات منها خشنه ـ جافة ومجعدة السطح ، ومن أكثر أمثلة هذه المجموعة الميكروب المسبب لمرض السل Mycobacterium tuberclosis.



شكل ٨ـ١٦ : الشكل الظاهرى لسلاسل الكونيدات فى البكتيريا الخيطيـة من جنس ستربتومايسس Streptomyces .

ومن أمثلة الكورينى بكتيريا Corynebacteria الميكروب المسبب لمرض الدفتيريا والمعروف باسم Corynebacterium diphtheria.

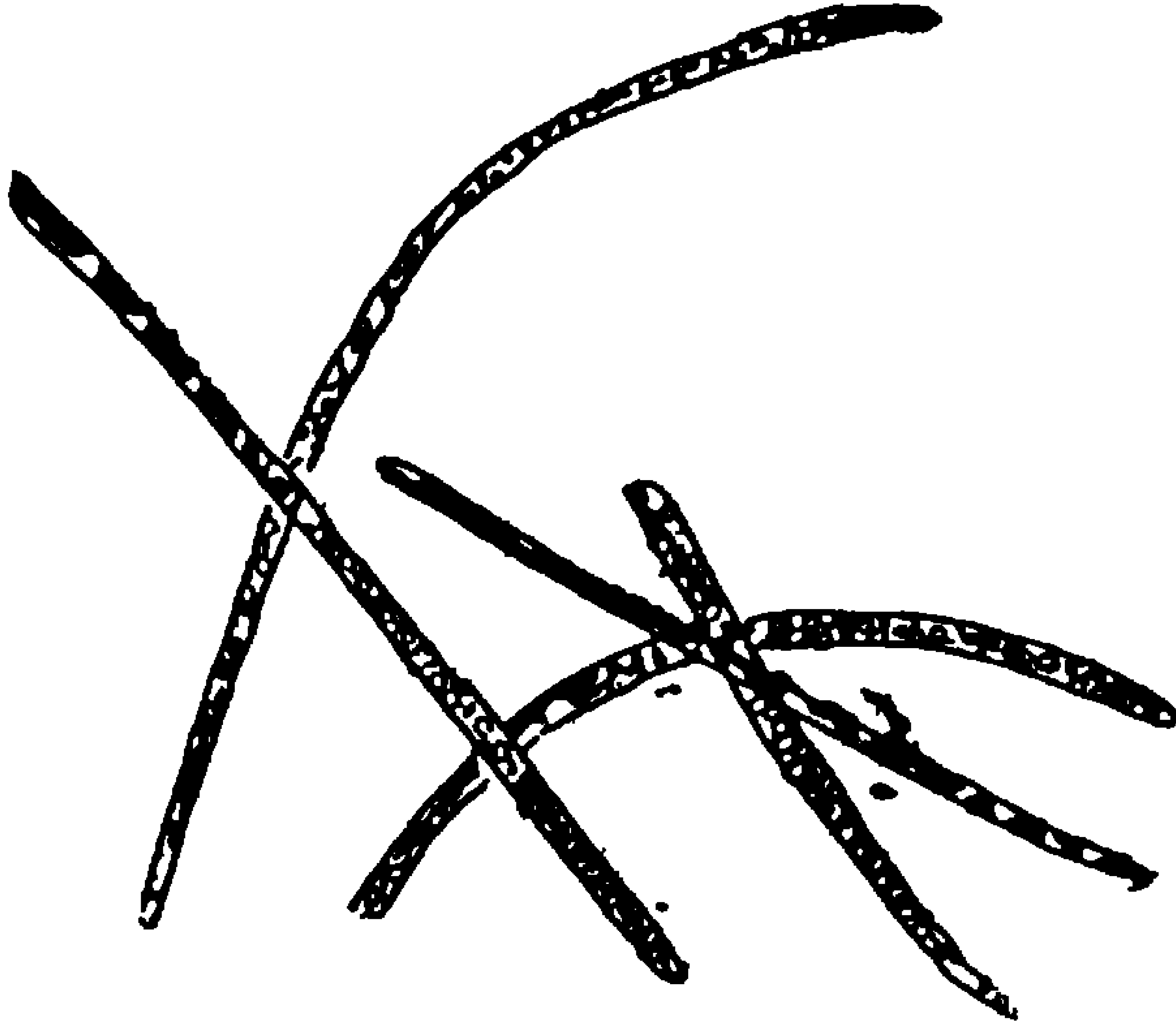
كما تتجمع خلايا البكتيريا الزاحفة Gliding bacteria العصوية الشكل المعروفة باسم Beggiatoa على هيئة خيوط Filaments أيضا (شكل ٨ـ١٧) وكذلك البكتيريا المؤكسدة للكبريت Sulfur-oxidizing bacteria المعروفة باسم Thiothrix أيضا على صورة خيوط أيضا . (شكل ٨ـ١٨) .

خامسا : البكتيريا المتبرعمة Budding bacteria

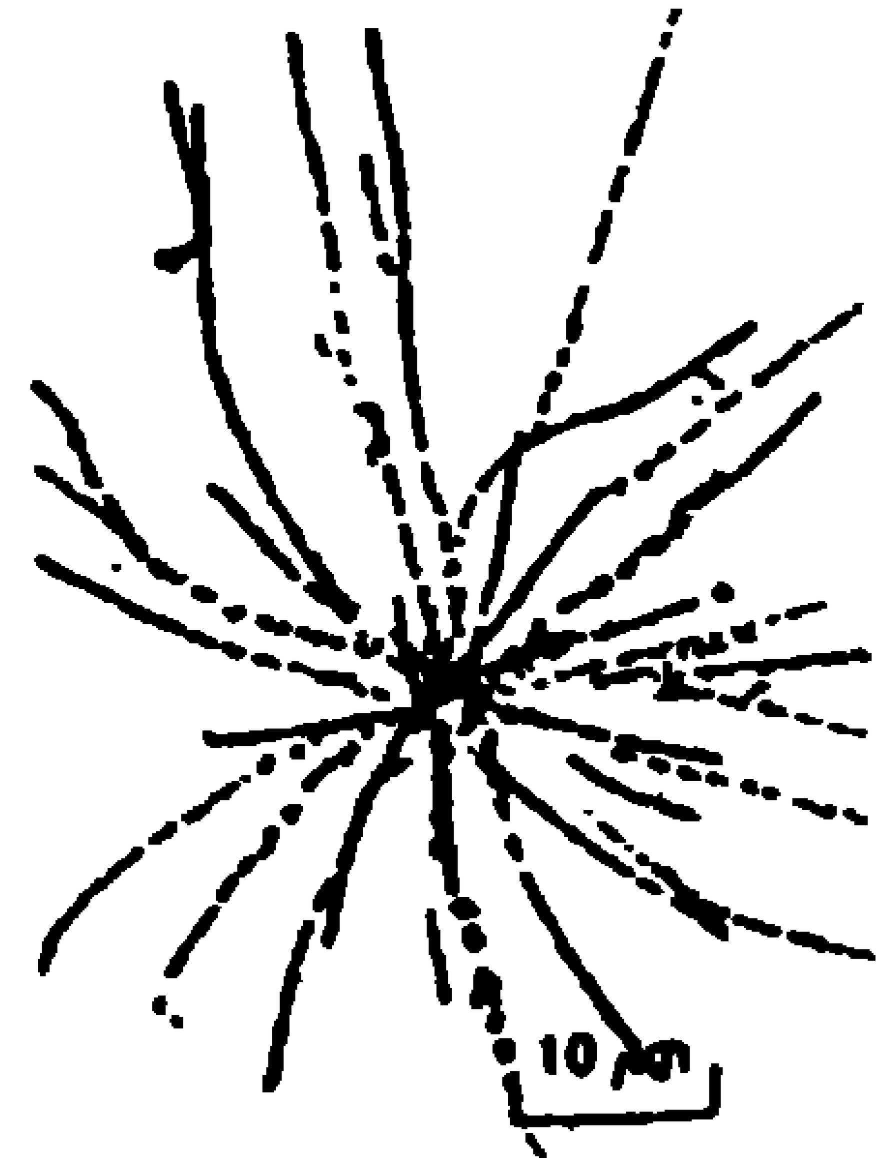
تنقسم معظم البكتيريات بالانقسام المباشر مكونة خلايا تشبه الخلية الأم . أما البكتيريا التى تنقسم بالتبرعم Budding فان البرعم يظهر عند أحد نهايتى الخلية ويظل فى النمو الى أن يصل الى حجم يماثل حجم الخلية الأم ، ويبين شكل (٨ـ١٩) الأشكال التى يمكن رؤيتها تحت المجهر أثناء التبرعم فى مزرعة من Rhodopseudomonas . أما الشكل (٨ـ٢٠) فهو يوضح التبرعم فى البكتيريا المعروفة Hyphomycrobium vulgare التى يتكون البرعم فيها فوق زائدة أنبوبية تفصله عن الخلية الام . مجموعة أخرى من البكتيريا المتبرعمة مثل الـ Ancalomicrobium و Prosthecomicrobium الا أننا سنذكرها تحت سادسا نظرا لتمييزها بشكل خاص وهو الشكل النجمى .

سادسا : البكتيريا النجمية Star-shapped bacteria

وتأخذ هذه البكتيريا شكل النجوم . وقد عزل Staley فى عام ١٩٦٨م بكتيريا ذات أشكال نجمية مختلفة من مياة عذبة ، ومن أمثلة البكتيريا النجمية Ancalomicrobium شكل (٨ـ٢١أ،ب) ويوضح الشكل الخطوات التى تتم حتى ينتهى التبرعم فى هذا الجنس . كما عزل Staley أيضا البكتيريا النجمية المعروفة باسم Prosthecomicrobium pneumaticum (شكل ٨ـ٢١جـ) وهى تأخذ شكل النجمة السداسية ،



شكل ٨ـ١٧ : صورة بمجهر التباين لمزرعة Beggiatoa



شكل ٨ـ١٨ : الوريدات التى تكونها البكتيريا الخيطية المؤكسدة للكبريت Thiothrix .

شكل ٨ـ١٩ : صورة بمجهر التباين لخلية متبرعمة من

Rhodopseudomonas acidophila

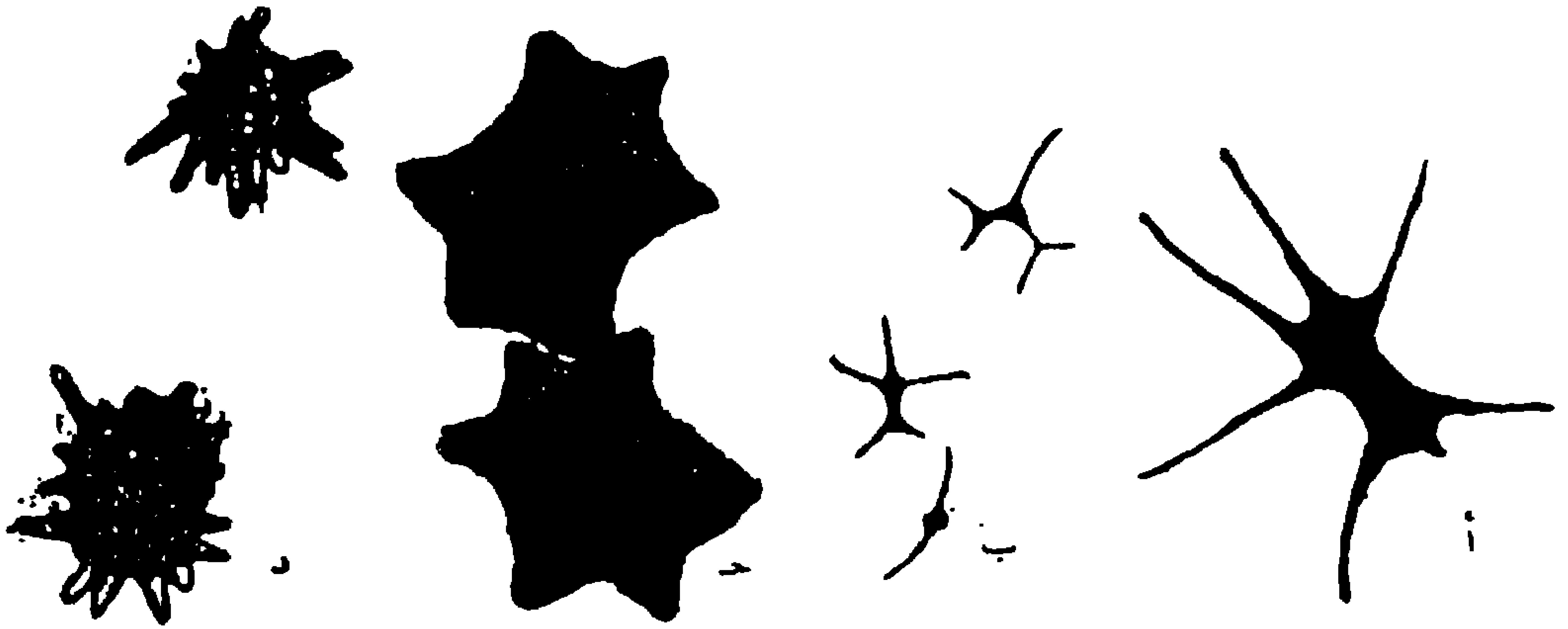


شكل ٨ـ٢٠ : صورة بالمجهر الالكترونى

أ ـ للبكتيريا Hyphomycrobium Sp. التى تتكاثر بالتبرعم فوق زائدة خاصة ·

ب ـ للبكتيريا الملتفة ويظهر البرعم فى نهاية الخلية الملتفة على هيئة حبل ·





شكل ٨ــ٢١ : صورة مجهرية للبكتيريا النجمية المختلفة

أ ــ صورة بالمجهر الالكترونى لبكتيريا الماء العذب Ancalomicrobium adetum

ب ــ صورة بمجهر التباين لنفس البكتيريا ٠

جـ ــ صورة بالمجهر الالكترونى لبكتيريا الماء العذب Prosthecomicrobium pneumaticum فى نهاية مرحلة الانقسام ٠

د ــ صورة بالمجهر الالكترونى لبكتيريا الماء العذب غير مسماة حاليا ٠

كما تمكن نفس الباحث من عزل بكتيريا أخرى ذات شكل نجمى غير منتظم (شكل ٨ــ٢١د) ٠

سابعا : البكتيريا غير منتظمة الشكل

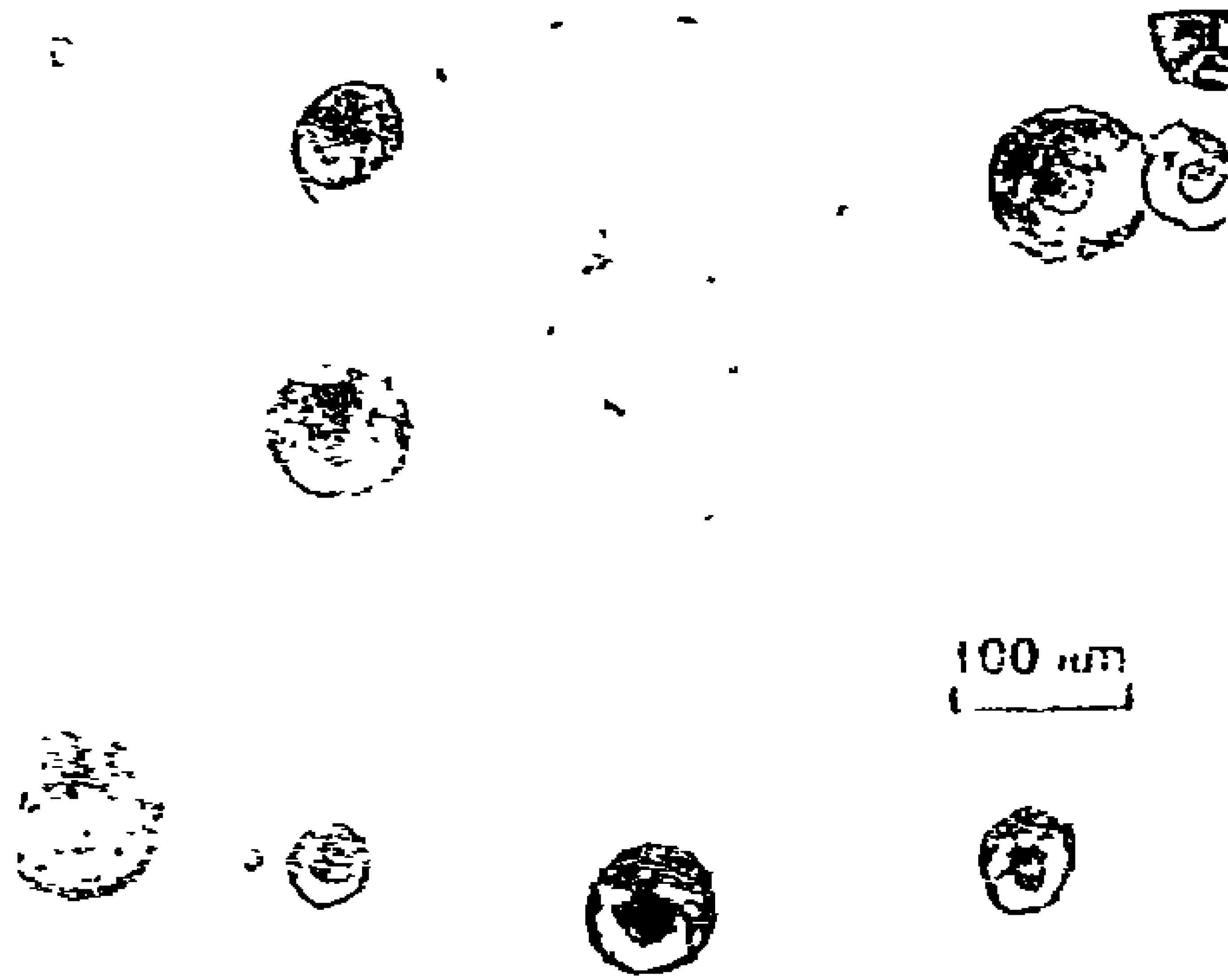
Irregular-shapped bacteria

تأخذ البكتيريات المختلفة أشكالا مختلفة محددة نتيجة وجود الجدار الخلوى ذو الطبيعة الصلبة ٠ الا أن احدى مجموعات البكتيريا ليس لها جدار خلوى وتعرف باسم الميكوبلازما Mycoplasma ٠ ونتيجة لانعدام الجدار الخلوى تأخذ هذه المجموعة من البكتيريا أشكالا متعددة غير محددة وغير منتظمة Irregular (شكل ٨ــ٢٢) وتتميز مستعمراتها بشكل البيضة المقلية فيتوسطها مركز أبيض يحيطه طبقة شفافة نوعا ما (شكل ٨ــ٢٣) ، ومعظم أفراد هذه المجموعة متطفلة

شكل ٨_٢٢ : صورة بالمجهر الالكترونى لخلايا بكتيريـــا الميكوبلازما Mycoplasma



شكل ٨_٢٣ : الشكل المميـــز لمستعمرات الميكوبلازما وهـــى تتميز بشكل البيض المقلى فيكـــون لها مركز ذو لون أبيض مرتفـــع داخل محيط شفاف نوعا ما ٠



اجبارية وتعيش فى أوساط ذات ضغط أسموزى يعادل الضغط الأسموزى للخلية المتطفلة مما يحفظ الخلايا من الانفجار ، كما تسبب هذه الكائنات مشاكل كثيرة فى مزارع الأنسجة Tissue cultures ٠ ولقد كان الميكـــروب المسبب لمرض ذات الجنب والرئة Pleuropneumonia فى الماشية هـــو أول ما اكتشف من أمراض هذه المجموعة ٠ لذلك فقد ظلت هذه المجموعـــة تسمى باسم PPLO لفترة زمنية طويلة اختصارا لـ Pleuropneumonia like organisms ٠ ولكن أفراد هذه المجموعة تصيب الانسان وكثيـــر من الحيوانات الفقارية الأخرى ٠

مما سبق يتضح أن البكتيريا ذات أشكال متعددة منها الكروى أو العصوى ، أو المنحنى أو الحلزونى أو الخيطى أو النجمى وغيرها ٠ وهذه الأشكال تؤثر بدرجة كبيرة على سلوك الخلايا وثباتها ٠ فالبكتيريا الكرويـــة مثلا أكثر مقاومة لظروف التجفيف أو الحرارة من البكتيريا العصويـــــة أو الحلزونية ، ولذلك نجد أن معظم جراثيم Spores البكتيريا _ بمـــا فى ذلك جراثيم البكتيريا العصوية _ هى من النوع الكروى أو البيضـــاوى. بينما تمتاز البكتيريا العصوية بزيادة السطح المعرض بالنسبة للحجـــم عن البكتيريا الكروية ، ولذلك فهى تأخذ العناصر المغذية من محلـــول

مخفف بسرعة أكبر كما أن تمثيلها الغذائى Metabolism يتم بسرعة أكبر من البكتيريا الكروية ، وتتميز البكتيريا الحلزونية Spiral from (عندما تكون من النوع المتحرك) بسهولة الحركة فى السوائل عن البكتيريا العصوية ، وذلك لأنها تتحرك بحركة تشبه حركة فتاحة الفلين ، وهى تلقى مقاومة أقل من مقاومة البكتيريا العصوية .

جـ ـ الصبغ كصفة ظاهرية :

رغم أن الصبغ لا يعتبر صفة مورفولوجية (ظاهرية) بدقة . الا أن الاتجاهات الحديثة فى تقسيم البكتيريا قد اعتبرت صبغة جرام المستخدمة فى صبغ البكتيريا صفة هامة مع الصفات المورفولوجية الأخرى ، ولذلك فاننا هنا سنعتبر الصبغ أحد صفات الشكل الظاهرى . وقد قسم دليل بيرجى التقديرى للبكتيريا مجموعات عديدة من البكتيريا وفقا للصفات المورفولوجية (عصوى ـ كروى ـ حلزونى ... الخ) . مع صبغة جرام (كالعصوية الموجبة لجرام والعصوية السالبة لجرام .. الخ) .

ظهر الاحتياج لصبغ البكتيريا ـ منذ وقت كبير ـ نظرا لأنها شفافة ، وعادة يصعب تمييزها من الوسط المحيط فى غياب الصبغات المناسبة ، ولكن المجاهر الحديثة (مثل مجاهر التباين) تسمح برؤية البكتيريا بوضوح دون صبغ كما أشرنا الى ذلك عند شرح مجهر التباين .

ومع ذلك فمازال الصبغ مهما لأسباب أخرى أهمها التعرف على البكتيريا موضع الدراسة ، فقد أصبح الصبغ بجرام وسيلة تعريفية هامة للبكتيريا . كما أن الصبغ قد يتم للتعرف على بعض التركيبات الخلوية مثل الأسواط Flagella أو الكابسولة Capsule أو الجراثيم الداخلية Endospores أو الحبيبات المخزنة كالفوليوتين Volutin والأجسام النووية Nuclear bodies وغيرها. وعلى أى حال يمكن تقسيم طرق الصبغ الى قسمين :

أولا : صبغ خلايا البكتيريا نفسها :

الصبغات البكتيرية عبارة عن مواد عضوية تمتص أو تدمص أو تتفاعل مع واحد أو أكثر من مكونات الخلايا • وعلى سبيل المثال فان عددا من الصبغات الشائعة الاستعمال عبارة عن مواد كاتيونية Cationic موجبة الشحنة ، وترتبط بقوة ببعض مكونات الخلايا مثل المواد الأنيونية Anionic سالبة الشحنة مثل الأحماض النووية والسكريدات العديدة الحمضية • ومن أمثلة الصبغات الكاتيونية صبغات أزرق الميثلين Methylene blue والبنفسجي المتبلور Crystal violet والسفرانين Safranin • وحيث أن خلايا البكتيريا – بصفة عامة – تحمل على سطحها شحنة سالبة ، فان الصبغات المذكورة ترتبط مع سطح الخلية بسرعة ولذلك فهى صبغات عامة ممتازة لتمييز الخلايا من الأوساط المحيطة بها •

النوع الآخر من الصبغات (مثل الأيوسين Eosin والفوكسين Fuchsin وأحمر الكونغو Congo red) عبارة عن صبغات أنيونية سالبة الشحنة وترتبط فى الخلايا بالمكونات الخلوية موجبة الشحنة مثل العديد من البروتينات الخلوية •

كما أن صبغة أسود سودان Sudan black (وهى صبغة تذوب فى الدهن) ترتبط مع المواد الدهنية فى الخلية ، وبذلك تستخدم هذه الصبغة للكشف عن وجود الدهون وموقعها فى الخلايا •

وطرق الصبغ السابقة الذكر والتى يستخدم فيها عادة صبغة واحدة تشير اليها بعض المراجع بطرق الصبغ البسيط تمييزا لها عن طرق الصبغ المركب والتى يستخدم فيها أكثر من صبغة واحدة مثل صبغة جرام وصبغة الجراثيم الداخلية وصبغ الأسواط وصبغ الجدار الخلوى وصبغ النواة وغيرها • ويمكن مراجعة أحد الكتب العملية لمعرفة تفاصيل طرق الصبغ المذكورة •

وتعتبر صبغة جرام هي أهم طريقة صبغ في علم البكتيريا لما لها من أهمية في التعرف على الكثير من البكتيريا حيث أنها لا تصبغ كل البكتيريا بنفس اللون ، فبعض البكتيريا تكتسب لونا معينا (أزرق في الموجبة لصبغة جرام) بينما البعض الآخر تكتسب لونا آخر (أحمر في البكتيريا السالبة لصبغة جرام) لذلك تعتبر هذه الطريقة في الصبغ من الطرق التفريقية Differential stain .

صبغة جرام : Gram stain

لا تقتصر أهمية صبغة جرام على تصنيف البكتيريا ، بل انها ايضا تبين خلافات أساسية في تركيب الجدار الخلوى للبكتيريات المختلفة ،وفي هذه الطريقة يتم تحضير غشاء من البكتيريا ويثبت بالحرارة ثم يغمر الغشاء البكتيرى بمحلول من صبغة البنفسجي المتبلور Crystal violet ثم يغسل ويغمر بمحلول يود . حيث يكون اليود مع البنفسجي المتبلور مركب معقد قابل للذوبان بالكحول (الايثانول) أو الأسيتون . لذلك فانه بعد الغمر بمحلول اليود يتم الغسيل بالكحول أو الأسيتون ، والخطوة الأخيرة في الصبغ تكون بواسطة السفرانين أو الفوكسين .

والهدف من الغسيل بالكحول هو ازالة المركب المعقد الناتج من تفاعل البنفسجي المتبلور مع اليود من الخلايا السالبة لصبغة جرام والتى تحتوى على طبقة رقيقة من مادة الببتيد و جليكان الشبكية التركيب والتى تسمح بنفاذ هذا المركب المعقد الذائب الأزرق اللون الى خارج الخلية عند الغسيل بالكحول فتصبح الخلايا السالبة لصبغة جرام شفافة في نهاية الغسيل بالكحول . أما الخلايا الموجبة لصبغة جرام والتى تحتوى على طبقة سميكة من مادة الببتيد وجليكان الشبكية التركيب والتى تضيق ثقوبها عند المعاملة بالكحول فان الغسيل بالكحول لا يسمح بخروج المركب المعقد (البنفسجي المتبلور - اليود) من تلك الثقوب الضيقة . فتؤدى عملية الغسيل بالكحول الى عدم ازالة المركب المعقد الأزرق اللون من الخلايا الموجبة لصبغة جرام فتأخذ الخلايا اللون الأزرق في نهاية الغسيل بالكحول .

أما الهدف من الغمر بالسفرانين أو الفوكسين بعد الغسيل بالكحول فتهدف الى اظهار الخلايا السالبة لصبغة جرام بلون آخر (أحمر) غير اللون الأزرق المميز للخلايا الموجبة لصبغة جرام ٠

ومن الجدير بالذكر أن صبغة جرام ليس لها علاقة بالتركيب الكيمائى لطبقة الببتيد وجليكان والتى توجد فى البكتيريا فقط٠ حيث أن كلا من البكتيريا السالبة والموجبة لصبغة جرام تحتويان على طبقة الببتيد وجليكان ولكن يختلف سمك طبقة الببتيد وجليكان فيهما ،فالبكتيريا السالبة لصبغة جرام تحتوى على طبقة جزيئية واحدة من مادة الببتيد و جليكان ، أما البكتيريا الموجبة لصبغة جرام فتحتوى على عدة طبقات جزيئية من هذه المادة ، كما سيلى ذكره فى تركيب الجدار الخلوى ٠

وكدليل آخر على عدم علاقة طبقة الببتيد وجليكان بالتركيب الكيمائى لطبقة الببتيد وجليكان يلاحظ أن الخميرة موجبة لصبغة جرام، بينما لا تحتوى على مادة الببتيد وجليكان ٠ وذلك يؤكد أن التركيب الطبيعى للجدار الخلوى وليس التركيب الكيمائى هو السبب الرئيسى فى الاستجابة لصبغة جرام ٠ ويمكن الرجوع الى التركيب الكيمائى للجدار الخلوى للبكتيريا السالبة أو الموجبة لصبغة جرام فى الفصل التالى ٠

ثانيا : الصبغ السالب Negative staining (صبغ الوسط الذى توجد فيه البكتيريا :

وهو يعتمد على صبغ الوسط الموجودة فيه البكتيريا دون صبغ البكتيريا نفسها ، فتظهر البكتيريا الغير مصبوغة فى وسط مصبوغ، وأكثر ما تستخدم هذه الطريقة لفحص العلبة (الكبسولة) Capsule لبعض أنواع البكتيريا أو لفحص البكتيريا التى يصعب صبغها بطرق الصبغ (الموجبة) العادية مثل أفراد جنس (سبيروكيتا Spirochaeta)٠ والصبغا المستخدمة لهذا الغرض لا تمتص أو تدمص أو تتفاعل مع مكونات الخلايا ، ومن أمثلتها الحبر الهندى India ink (وهو عبارة عن مستحلب لحبيبات الكربون الغروية) وصبغة النيجروسين Nigrosin (وهى

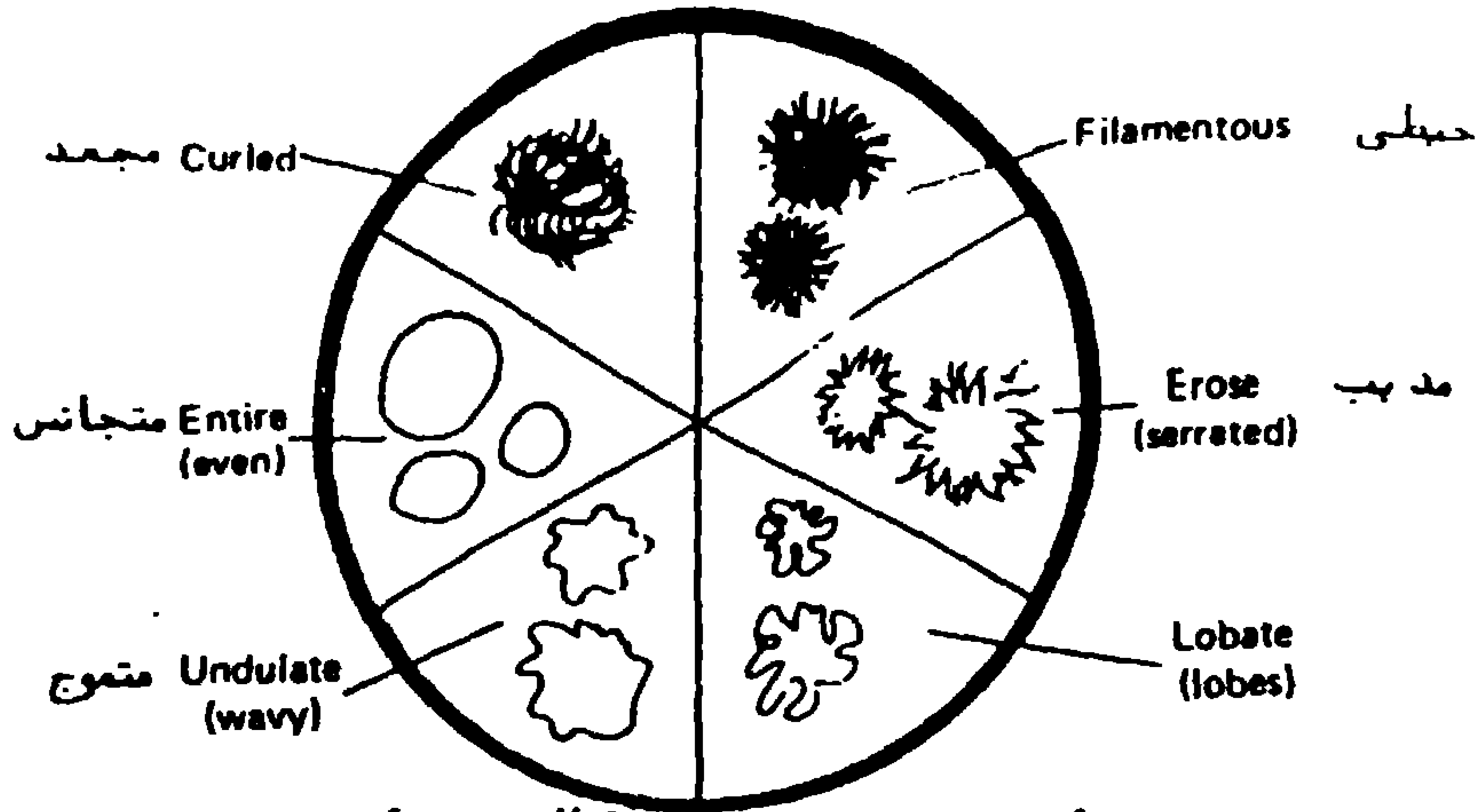
عبارة عن صبغة سوداء ذائبة في الماء) .

والصبغ السالب بالحبر الهندي أو النيجروسين لا بد أن يفحص في وسط سائل ولا يجب أن يجف. فيحضر معلق بكتيري في ماء ثم يوضع على شريحة نظيفة ويغطى بغطاء الشريحة . ثم توضع نقطة من الصبغة عند أحد حواف غطاء الشريحة فتتخلل الصبغة الى تحت الغطاء ببطء ويمكن فحص الشريحة بذلك تحت المجهر .

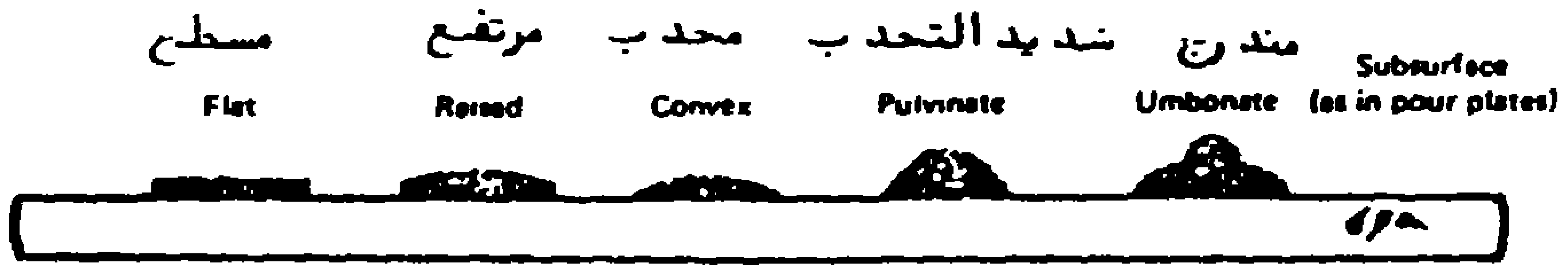
د - صفات المستعمرات:

ان صفات المستعمرات على المستنبتات الصلبة والسائلة من حيث اللون والشكل والتركيب واللمعان والنمو عن سطح المستنبت أو تحته وخشونة المظهر او نعومته الى آخره (شكل ٨-٢٤ أ - د) ذات درجة محدودة جدا في التعرف على البكتيريا أو غيرها من الأحياء الدقيقة ، ولذلك فهي - حاليا - لا تستعمل للتعرف على البكتيريا خاصة وأن هذه الصفات قد تتغير بتغير الظروف البيئية المختلفة. (والشكل ٨- ٢٥) يوضح أشكال مستعمرات من بكتيريا Rothia dentocariosa ، فبعضها يبدو خشن المظهر وبعضها ناعم المظهر رغم أن كلا المستعمرتين ناتجتان من نفس العزلة Single isolate وكلاهما نامي على نفس المستنبت (آجار الصويا والتربتيكاز Trypticase soy agar) وعند نفس العمر (٧ أيام) .

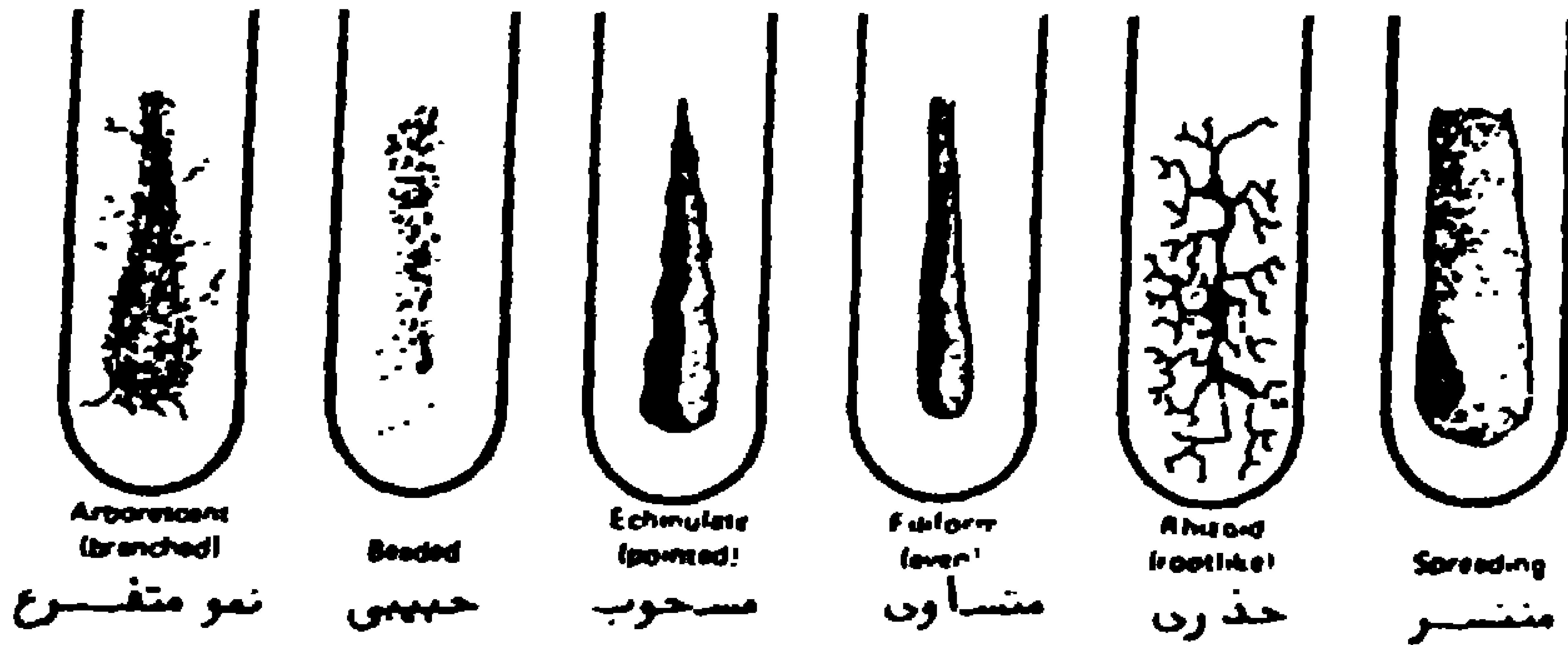
وفي حالات قليلة قد يفيد صفات المستعمرة في التعرف على البكتيريا كما سبق الاشارة الى ذلك في التعرف على مستعمرات بكتيريا الميكوبلازما التي تشبه البيض المقلي وغير ذلك من الحالات المحدودة .



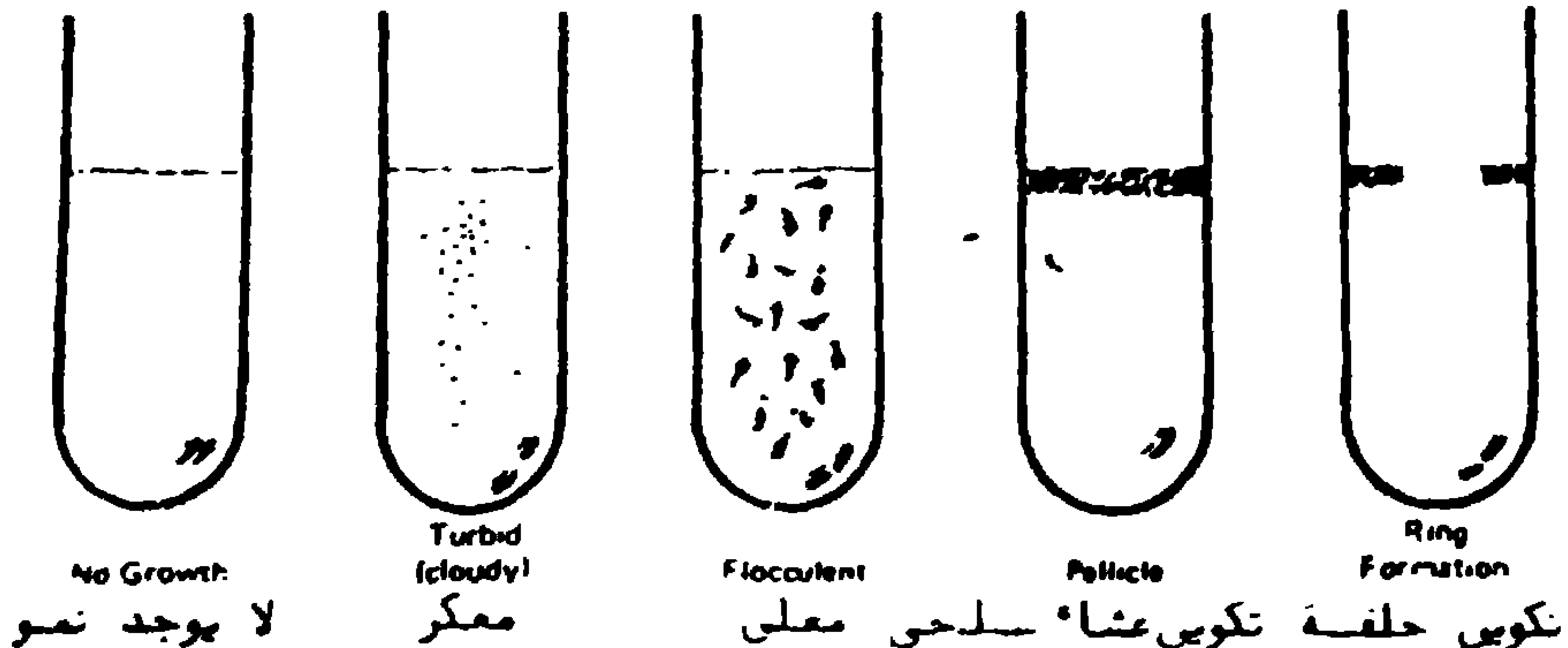
أ ـ خواص حافـــة المستعمرة



ب ـ خواص ارتفاع المستعمرة

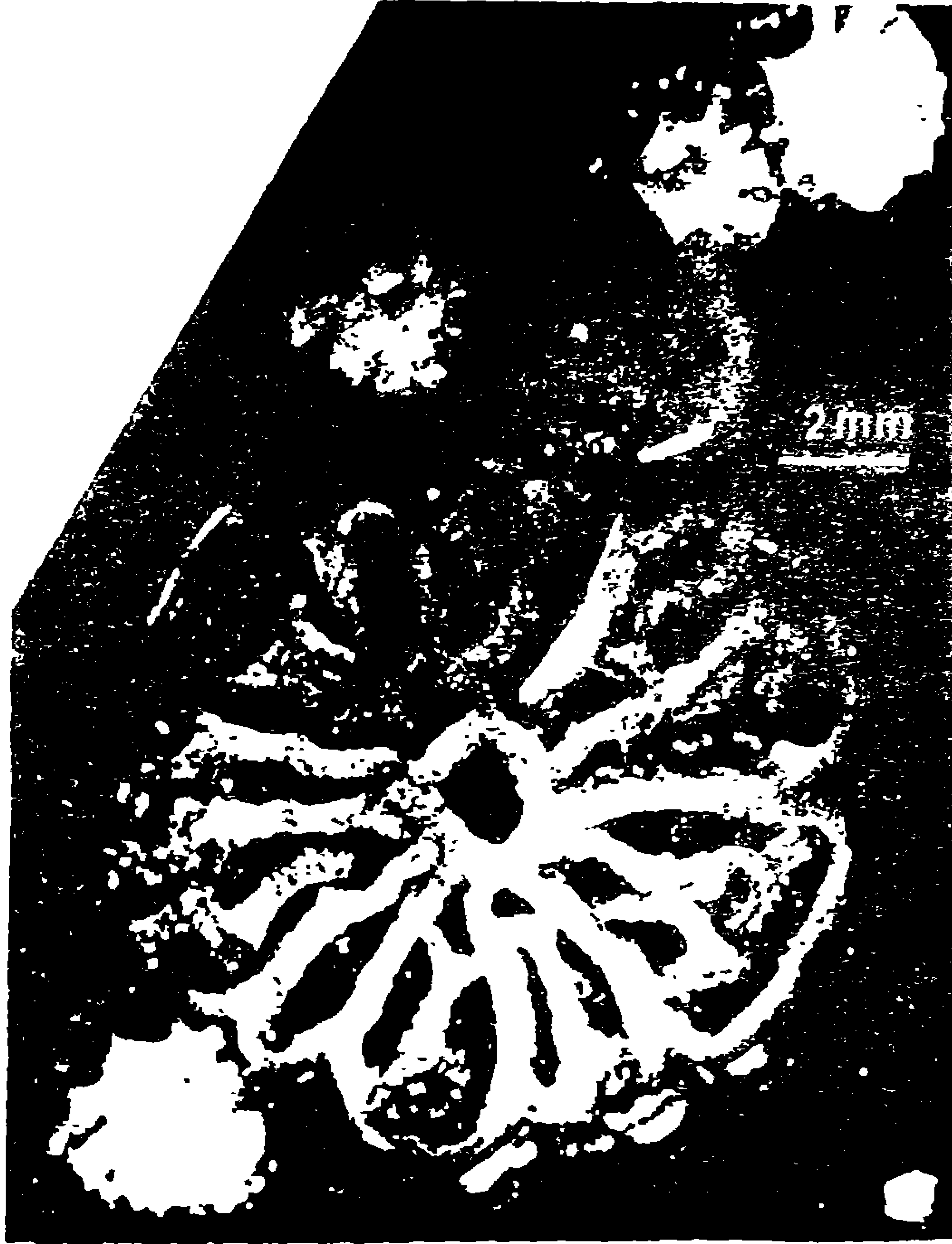


جـ ـ عمل خط على سطح الاجار المائل



د ـ خواص النمو فى مستنبت ســــائل

شكل ٨ ـ ٢٤ : صفات الأحياء الدقيقة على المستنبتات الصلبة



شكل ٨ــ٢٥ : مستعمرات من Rothia dentocariosa تظهر مستعمرات مختلفة الشكل والتركيب على نفس المستنبت (آجار التربتكاز والصويا) وعند نفس العمر (٧ أيام)

الفصل التاسع

التركيب التشريحي والوظيفي لخلية البكتيريا

The Cellular Structure and Function of Bacterial Cell

بينما يرجع الفضل في اكتشاف الأحياء الدقيقة Microorganisms (الميكروبات Microbes) الى المجهر، فان التركيب التشريحي لخلايا البكتيريا وتمييزها عن غيرها من الكائنات الحية الدقيقة الأخرى يرجع بالدرجة الأولى الى اكتشاف المجهر الالكتروني Electron Microscope. وقد توصل العلماء الى معرفة الكثير من أسرار هذه الكائنات الشديدة الصغر بعد اكتشاف المجهر الالكتروني ، والشكل (٩ـ١) .. يوضح صورة مأخوذة بالمجهر الالكتروني لقطاع رقيق في بكتيريا Bacillus subtilis وفيها يبدو واضحا أن الجدار الخلوي قد أتم الانقسام لتوه. ويظهر التركيب الغشائي للخلية متصلا بالجدار الخلوي. أما الجزء الفاتح في الصورة فهو يوضح الجزء النووي.

ويمكن تقسيم مكونات خلية البكتيريا الى مجموعتين :

مكونات أساسية : Invariant components

وهي توجد في جميع الكائنات بدائية النواه وهي ضرورية للحياة. وتشمل الغشاء الخلوي Cell membrane والبروتوبلازم بما فيه من ريبوسومات Ribosomes والجزء النووي Nuclear region (النواة البدائية).

مكونات غير أساسية : Variant components

وهي توجد في بعض وليس كل ذوات النواه البدائية وربما يعزى اليها بعض الوظائف الخاصة في الخلايا التي تحتويها ، وتشمل الجدار الخلوي Cell Wall والعلبة (الكبسولة Capsule) والطبقة الهلامية Slime layer والأسواط Flagella وأعضاء التثبيت Fimbrias والزوائد الجنسية Sex pili والأجسام الداخلية Inclusion bodies مثل المواد المخزنة والفجوات الغازية Gas vesicles .. والجراثيم Spores



شكل ٩-١ : صورة بالمجهر الالكترونى لقطاع رقيق فى بكتيريا Bacillus subtitis فى مرحلة الانقسام. وفى الصورة يبدو واضحا أن الجدار الخلوى قد انقسم لتوه ، كما يبدو أن الغشاء الخلوى فى كلا الخليتين الأختين (يحتوى على باقى مكونات الخلية) متصلا بالجدار الخلوى العرضى الذى تكون لتوه . أما الجزء الفاتح من الصورة فهو يحتوى على الحمض النووى DNA (التكبير ٣١٢٠٠ مرة).



شكل ٩-٢ : صورة بالمجهر الالكترونى (تكبير ٢٢١,٠٠٠ مرة) لقطاع رقيق من الغشاء الخلوى ويتحدد بخطين واضحين أسودين بينهما منطقة فاتحة اللون .

والبلازميدات Plasmids.

أولاً : المكونات الأساسية Invariants :

١- الغشاء الخلوى Cell membrane :

ويطلق عليه أيضا اسم الغشاء السيتوبلازمى Cytoplasmic membrane أو الغشاء البلازمى Plasma membrane لأنه يعتبر مسئولا عن كل عمليات الانتشار الغشائى من الخلية واليها . وهذا الغشاء هو الطبقة الخارجية من البروتوبلاست Protoplast . والمقصود بالبروتوبلاست هو الخلية المتكاملة بعد اذابة الجدار الخلوى وهو الطبقة الحقيقية التى تفصل داخل الخلية عن البيئة الخارجية . واذ جرح أو قطع الغشاء الخلوى فان تكامل الخلية ينتهى وعادة تموت. لذلك فان الغشاء الخلوى المتكامل ذو أهمية أساسية بالنسبة للخلايا بينما يمكن اذابة الجدار الخلوى وحفظ البروتوبلاست فى محلول ذو ضغط أسموزى يعادل الضغط الأسموزى للخلية دون أن يتأثر نشاط الخلية .

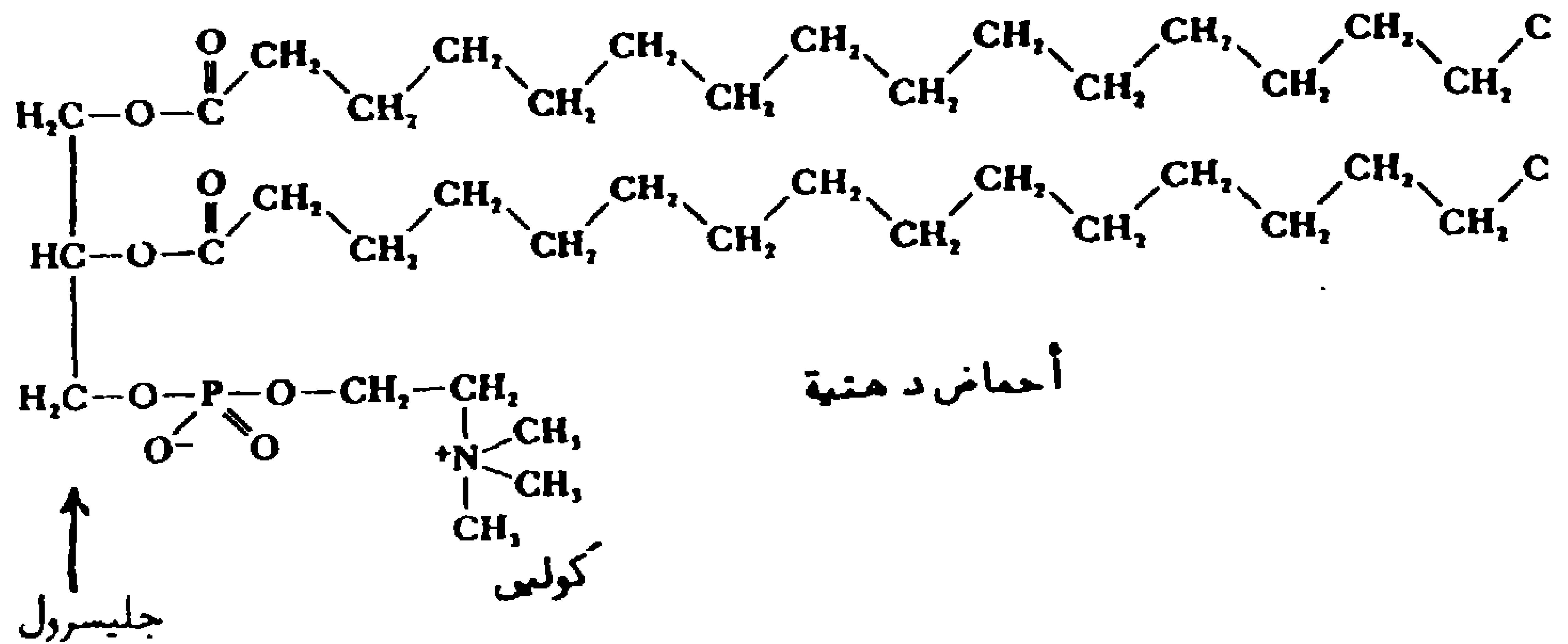
والغشاء الخلوى عبارة عن طبقة رقيقة جدا سمكها ٨ نانوميتر (nm) يمكن رؤيتها فى الصور المأخوذة بواسطة المجهر الالكترونى مثلا بخطين متوازيين بينهما منطقة فاتحة اللون (شكل ٩-٢) وتلى طبقات الجدار الخلوى مباشرة وتحيط بجميع مكونات الخلية الداخلية. وهذا التركيب هو ما يعرف باسم أساس تركيب الأغشية الخلوية (وحدة الغشاء Unit membrane system) يوجد فى معظم الكائنات الدقيقة ذات النواة البدائية . ويسمى هذا التركيب بوحدة الغشاء Unit membrane تمييزا له عن الأغشية الأكثر تعقيدا . وأهم مكونات الغشاء الخلوى هى الفوسفوليبيدات Phospholipids والبروتينات Proteins . و تكون الفوسفوليبيدات التركيب الأساسى للغشاء . فتنتشر جزيئات الفوسفوليبيدات (شكل ٩-٣) فى الماء بحيث تتجمع الأجزاء غير المحبة للماء (الطاردة للماء) Hydrophobic للداخل فى الوسط مكونة الطبقة الفاتحة

اللون · وتتجمع الأجزاء القابلة للذوبان في الماء Ionic (المحبة للماء) Hydrophilic للخارج (لسطحي الغشاء) وهذه الأجزاء هي التي تحمل الشحنات الكهربية المختلفة مكونة الخطين المتوازيين اللذين يظهران في الصورة الناتجة عن المجهر الالكتروني ويمكن تخيل وضع هذه الفوسفوليبيدات في تكوين الغشاء الخلوي بالرسم الموضح في شكل (٩-٤). أما بروتينات الغشاء الخلوي فمعظمها غير محب للماء (طارد للماء) Hydrophobic وهي توجد منتشرة في وسط شبكة الفوسفوليبيدات Phospholipid matrix مرتبطة بها · ومما يساعد على ثبات هذا التركيب وجود الروابط الأيونية Ionic bonding بين الأجزاء المحبة للماء Hydrophilic والروابط الطاردة للماء Hydrophobic bonding بين الاجزاء الطاردة للماء Hydrophobic كما أن أيونات المغنسيوم والكالسيوم تلعب دورا هاما في ثبات هذا التركيب خاصة في الجزء المحب للماء ·

وتختلف الأغشية الخلوية لذوات النواة الحقيقية Eucaryotes عن هذا التركيب في احتوائها علاوة على ما سبق على السيترولات Sterols ··· ومما يجدر ذكره أن الأغشية الخلوية للميكوبلازما Mycoplasma (وهي مجموعة البكتيريا التي لا تكون جدارا خلويا) تحتوي أيضا في أغشيتها الخلوية على السيترولات Sterols .

دور الأغشية الخلوية كغشاء شبه منفذ

بالرغم من رقة (قلة سمك) الغشاء الخلوي ، الا أنه يعمل كحاجز (مانع) جيد للانتشار الانسيابي أو البسيط Simple or passive movement وتطلق عليه بعض المراجع " الانتشار السلبي " للجزيئات الذائبة ، ومع العلم بأن بعض الجزيئات غير القطبية Non polar وبعض المواد الذائبة في الدهن يمكنها أحيانا اختراق الغشاء الخلوي عن طريق (الانتشار الانسيابي) وذوبانها في الطبقة غير المحبة (الطاردة) للماء Hydrophobic الا أن حركة معظم الجزيئات عبر غشاء الخلية تحدث من خلال ما يعرف بنظام النقل النشط Active Transport System .



شكل ٩-٣ : التركيب البنائي للفوسفوليبد المعروف باسم الليسيثين Lecithin وتكون فيه أصول الأحماض الدهنية الجانبية ذات سلسلة مختلفة الطول والتركيب البنائي ، وهي ذات طبيعة غير أيونية Non-ionic وغير محبة للماء (طاردة للماء Hydrophobic) وهي التي تتجمع في الطبقة الفاتحة من الغشاء الخلوي ، أما باقي الجليسرول مع القاعدة النيتروجينية الفوسفورية فهي ذات طبيعة أيونية Ionic وقابلة للذوبان في الماء (محبة للماء Hydrophilic) وهي تكون الخطين المتوازيين اللذان يظهران في صورة المجهر الالكتروني (شكل ٩-٢) .

فوسفو ليبد
مجموعة طاردة للماء
مجموعة محبة للماء
جزيئات فوسفوليبدات
بروتينات

شكل ٩-٤ : رسم توضيحي لبناء الغشاء الخلوي وتمثل الدوائر ذات الذيلين جزيئات الفوسفوليبدات حيث تتجه أصول الأحماض الدهنية (غير المحبة للماء) متجهة للداخل بينما تكون الدوائر (وهي الجزء المحب للماء) على السطحين الداخلي والخارجي للغشاء الخلوي . ويوجد في هذا البناء العام جزيئات بروتين محبة للماء وجزيئات بروتين غير محبة للماء ومواد أخرى تحمل شحنات كهربية مثل أيونات المعادن كالمغنيسيوم والكالسيوم ، ورغم وجود اختلافات في التركيب الكيميائي فان التركيب البنائي الموضح هنا متشابه في الخلايا ذات النواه الحقيقية والخلايا ذات النواه البدائية .

فالجزيئات المتأينة كالأحماض العضوية والأحماض الأمينية والأملاح غير العضوية لا تستطيع اختراق الغشاء الخلوى لعدة أسباب منها :

١) أنها تحمل شحنات كهربية مما يسبب طردها بعيدا عن الغشاء الخلوى .

٢) أنها لا تذوب فى طبقة الدهن غير المحبة للماء Hydrophobic الموجودة فى الغشاء .

٣) أنه لا يوجد ثقوب فى الغشاء الخلوى على درجة من الكبر تسمح بمرور هذه الجزيئات .

فحتى أيونات الهيدروجين (H^+) لا تستطيع بسهولة اختراق الغشاء الخلوى بالانتشار الانسيابى أو البسيط Passive transport ولكن يجب نقله بواسطة بروتينات خاصة خلال ما يعرف بالنقل النشط Active transport . لذلك فان وظائف الغشاء الخلوى تتمثل فى الآتى :

١) حاجز يمنع اختراق المواد بصفة عامة .

٢) جهاز نقل اختيارى Selective transport يمكنه اختيار مواد معينة لادخالها للخلية حتى ولو كانت موجودة بتركيز منخفض خارج الخلية .

٣) المحافظة على المكونات الداخلية من التسرب للخارج . فالمعروف أن الخلية تحتوى على ما يعرف بالمحتويات الخلوية Cell pool وهى عبارة عن محلول مائى لعدد من الأملاح والأحماض العضوية والأحماض الأمينية والفيتامينات ومرافقات الانزيمات وعدد كبير من الجزيئات . فعندما يفقد الغشاء الخلوى قدرته على التحكم فى مرور الجزيئات ، فان كل هذه المواد تفقد بسرعة ولا يبقى داخل الخلية الا الجزيئات الكبيرة نوعا والتى لا تستطيع المرور من الجدار الخلوى Cell wall.

٤) يلعب الغشاء الخلوى فى ذوات النواة البدائية دورا هاما فى بداية انقسام الكروموسوم .

٥) يلعب الغشاء الخلوى فى الكائنات ذوات النواه البدائية دورا هاما فى عمليات التنفس حيث أن الانزيمات المسئولة عن عملية التنفس مرتبطة مع الغشاء الخلوى للخلية .

٦) فى الكائنات ذات النواه البدائية الممثلة للضوء يقوم الغشاء الخلوى

بدور هام التمثيل الضوئى ٠

اختلاف وجهى الغشاء الخلوى للبكتيريا

لقد ثبت الآن أن وجهى الغشاء الخلوي للبكتيريا مختلفان ٠صحيح أن كلا الوجهين يتكون من الأجزاء المحبة للماء Hydrophilic من جزيئات الفوسفوليبيدات الا أن البروتينات الموجودة على السطح الداخلى للغشاء الخلوى تختلف عن البروتينات الموجودة على السطح الخارجى له وقد أمكن ملاحظة ذلك عن طريق فحوصات دقيقة بالمجهر الالكترونى ، وبعد معاملات خاصة ٠

كما أنه أمكن حديثا دراسة وظائف الأغشية الخلوية عن طريق تحضير ما يعرف باسم المثانات الغشائية Membrane vesicles وهى عبارة عن تركيبات كروية تتكون عند تجزيء الغشاء الخلوى للبكتيريا بعناية تحت ظروف خاصة ٠ فعند تجزيء الغشاء الخلوى تتكون أجزاء صغيرة مسطحة من الغشاء الخلوى لا تلبث أن تتحول الى تركيبات كروية الشكل ٠ وبالطبع فان هذه الكريات الصغيرة (المثانات) Vesicles يحتوى محيطها على الجزء الطارد للماء Hydrophobic وسطحيها على الجزء المحب للماء Hydrophilic وتمتاز هذه الكرات بالقدرة على الالتصاق ببعضها بحيث تكون الأجزاء الطاردة للماء مجاورة لبعضها ، والأجزاء المحبة للماء تكون مجاورة لبعضها أيضا ، وهذا ليس غريبا نتيجة لوجود الروابط الطاردة للماء Hydrophobic bonding والروابط الأيونية Ionic bonding أما الغريب حقا فان البروتينات التى كانت على السطح الخارجى فى الغشاء الخلوى تتجمع فى نفس الوجه على المثانات Vesicles المذكورة وكذلك الحال بالنسبة للبروتينات التى تتجمع على السطح الداخلى للغشاء فوجد أيضا أنها تتجمع على السطح الثانى ٠

وقد أمكن تكوين شبيهات الأغشية الخلوية من فوسفوليبيدات نقية وبروتينات للأغشية الخلوية لكائنات دقيقة مختلفة ، وتسمى هذه التركيبات Liposomes وأمكن بذلك دراسة مرور السكريات والعناصر الغذائية

المختلفة وكثير من الجزيئات عبر الأغشية الخلوية ٠

هذا وسنشير لانتقال العناصر الغذائية عبر الغشاء في الفصل الحادى عشر ٠٠٠

الأغشية الداخلية : Internal membranes

علاوة على الغشاء الخلوى الذى يلى الجدار الخلوى من الداخل يوجد غشاء آخر داخل هذا الغشاء فى كثير من ذوات النواه البدائية يمكن رؤيته بواسطة المجهر الالكترونى ٠

وهذا الغشاء الآخر قد يكون مجرد ثنيات وبروزات من الغشاء الخلوى الأصلى Cell membrane الذى سبق التحدث عنه ، أو قد يكون أعقد من ذلك٠ فالغشاء الداخلى للبكتيريا التى تمثل الضوء Photosynthetic bacteria (شكل ٩ــ٥) يقوم بتمثيل الضوء ، ويسمى لذلك بالغشاء الممثل للضوء Photosynthetic membrane.

كما أن بكتيريا التأزت Nitrifying bacteria المسماه نيتروزكوكس أو شانس Nitrosococcus oceanus ونيتروباكتر وينوجرادسكى Nitrobacter winogradski والبكتيريا المؤكسدة للميثان المسماه ميثانوموناس ميثانو أوكسيدانز Methanomonas methanoxidans وميثايلوكوكس كابسولاتس Methylococcus capsulatus كلها يظهر بها ثنيات غشائية واضحة للغشاء الخلوى الداخلى تشبه تلك الموجودة فى البكتيريا الممثلة للضوء ، ويعتقد أن هذه الثنيات هى موقع تثبيت النيتروجين أو موقع أكسدة الميثان ٠

الميسوسومات : Mesosomes

وهى تركيبات معقدة مكونة من ثنيات غشائية داخلية ، وغالبا ما توجد قرب موقع انقسام الخلية ، وربما تشارك فى تكوين الجدر العرضية عند الانقسام ، وتتكون هذه الثنيات الغشائية بدرجات مختلفة فى عدد

من البكتيريا البنفسجية الممثلة للضوء وعدد كبير من البكتيريا غير الممثلة للضوء والتى تحتوى على مستوى عالى من النشاط التنفسى مثل البكتيريا المثبتة للنيتروجين Azotobacter وبكتيريا التأزت Nitrifying bacteria.

ومن المحتمل أن تكون الثنيات المتعددة للغشاء الخلوى المكونة للميسوسومات فى هذه الأنواع من الخلايا هى لايجاد المزيد من التركيبات الخلوية اللازمة لعمليات التنفس أو التمثيل الضوئى ، وخاصة وأن أنظمة التنفس والتمثيل الضوئى فى ذوات النواه البدائية تكون متمركزة فى الغشاء الخلوى ٠

وتختلف هذه الميسوسومات عن حوامل الألوان الملاحظة فى البكتيريا الخضراء المزرقة ٠ فحوامل الألوان تلك عبارة عن أكياس غشائية مسطحة Thylakoids مخصصة يتم فيها التمثيل الضوئى ٠

ويمكن تلخيص وظائف الميسوسومات فى واحدة أو أكثر مما يلى :

* المشاركة فى تكوين الجدر العرضية عند انقسام الخلية وبالتالى تتحكم فى الانقسام الخلوى ٠
* القيام بدور خاص فى التنفس وانتاج الطاقة ٠
* القيام بدور خاص فى التمثيل الضوئى فى الكائنات الممثلة للضوء ٠

٢ـ البروتوبلازم

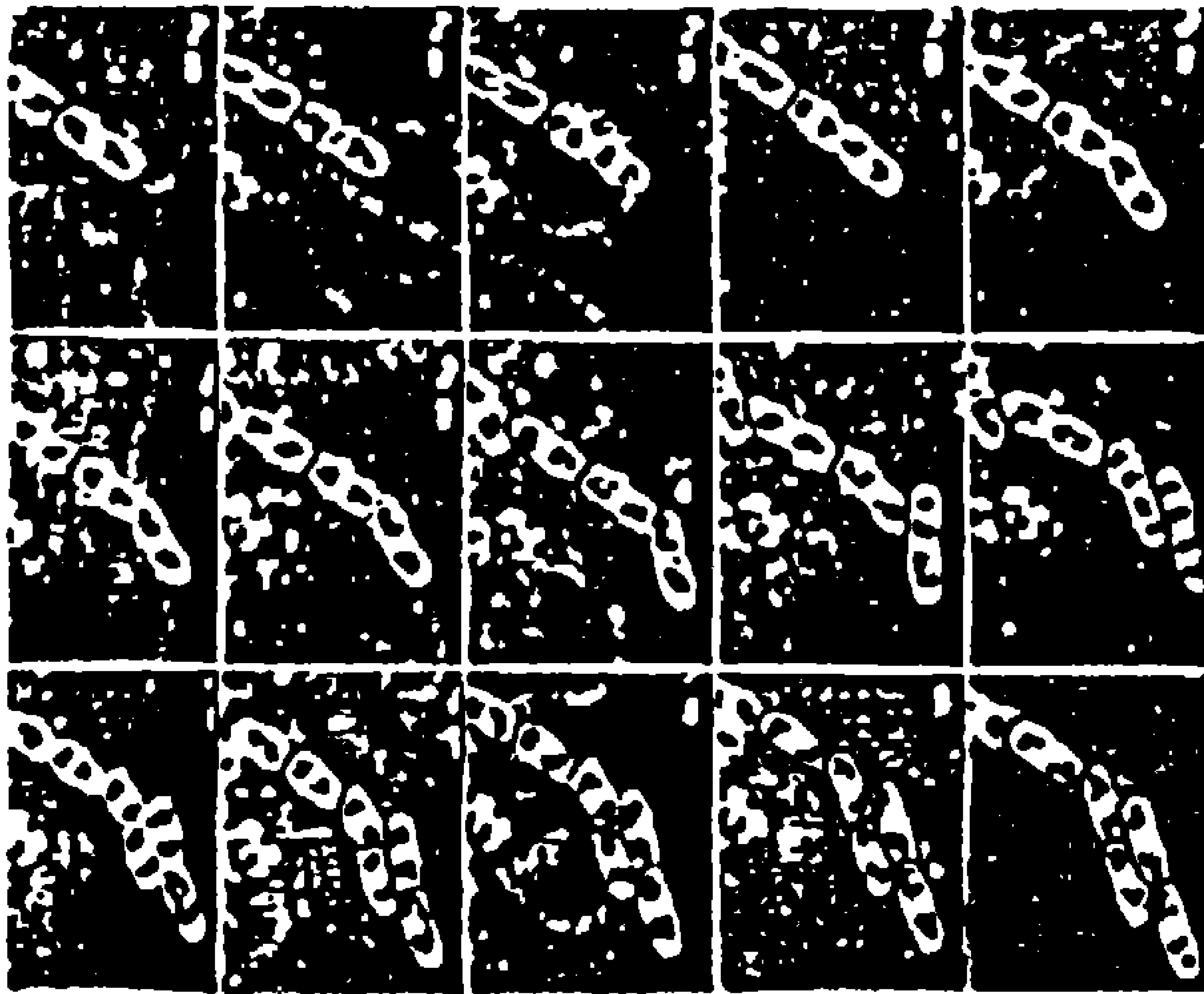
أهم المكونات الاساسية فى البروتوبلازم والتى توجد فى جميع الكائنات ذات النواه البدائية Procaryotes هى الريبوسومات Ribosomes والمنطقة النووية Nuclear region.

أـ الريبوسومات: Ribosomes :

الصور المأخوذة بالمجهر الالكترونى فى القطاعات الرقيقة فى البكتيريا تظهر جزيئات صغيرة قاتمة واضحة فى السيتوبلازم ٠ وهذه



شكل ٩ــ٥ : صورة بالمجهر الالكتروني للغشاء الخلوي الداخلي في البكتيريا الممثلة للضوء Anabaena ozollae يوضح الثنيات الداخلية Thylakoids والتي تلعب دورا هاما في تمثيل الضوء. يوجد ثنيات مماثلة لهذه الثنيات في البلاستيدات الخضراء لذوات النواة الحقيقية .



شكل ٩ــ٦ : مجموعة صور مجهرية لانقسامات متتالية لبكتيريا القولون E. coli في محلول مركز من البروتين لزيادة التمييز بين المنطقة النووية وباقي السيتوبلازم حيث تظهر المنطقة النووية قاتمة والسيتوبلازم فاتح اللون ، وقد انقضت فترة ٧٨ دقيقة من الصورة الاولى الى الصورة الأخيرة (أي ٥ر٢ وقت جيلي .) . لاحظ أن الخلايا تحتوي على ٢ــ٤ أنوية بدائية .

الجزيئات هى جزء من جهاز بناء البروتينات فى الخلية وتسمى الريبوسومات، وذلك لأنها أجسام تحتوى على الحمض النووى المعروف باسم حمض الريبونيكليك (رن أ RNA) Ribonucleic acid بنسبة ٦٠٪ منها أما الـ ٤٠٪ الأخرى من الريبوسومات فهى عبارة عن بروتينات ويميز الحمض النووى الموجود فى الريبوسومات عن غيره من أحماض الريبونيكليك باضافة تعبير الريبوسومى فيسمى حمض الريبونيوكليك الريبوسومى ribosomal RNA ويرمز له بالرمز ررن أ rRNA وقطر هذه الريبوسومات حوالى ٢٠ نانوميتر (النانوميتر = ١ × ١٠ ^-٩^ من المتر أو جزء من مليون جزء من المليمتر) وهى تمثل حوالى ٤٠٪ من الوزن الجاف للخلية وبها حوالى ٩٠٪ من الحمض النووى ر ٠ ن ٠ أ ٠ الخاص بالخلية ٠

والريبوسومات الموجودة فى ذوات النواة البدائية Procaryotes أصغر قليلا عن تلك الريبوسومات الموجودة فى ذوات النواة الحقيقية Eucaryotes وأخف وزنا ، وينعكس ذلك على ما يعرف بثابت الترسيب Sedimentation constant (وهو معدل ترسيب الريبوسومات خلال سائل معين عند تعريضها لقوة طرد مركزية عالية) ووحدة ثابت الترسيب تسمى سيفدبرج Svedberg ويرمز لها عادة بالرمز (س) S ٠ والريبوسومات فى ذوات النواه البدائية لها ثابت ترسيب = ٧٠ س (70 S) متميزة بذلك عن الريبوسومات فى ذوات النواة الحقيقية والتى لها ثابت ترسيب ٨٠ س (80 S) ٠

والريبوسومات البكتيرية تتكون من وحدتين صغيرتين عند انفصالهما ، فان ثابت الترسيب لهما يكون ٣٠س ، ٥٠س ، أما الريبوسومات فى الخلايا ذات النواة الحقيقية فتتكون من وحدتين لها ثابت ترسيب ٤٠ س ، ٦٠ س٠

وتزداد كمية الريبوسومات كلما زاد معدل النمو ٠ وتقل كلما قل معدل النمو ٠ وقد يرتبط الحمض النووى المرسال مرن أ mRNA بالعديد من الريبوسومات أثناء عملية ترجمة المعلومات فى عملية بناء البروتين ٠ ويسمى تجمع الريبوسومات بالحمض النووى المرسال باسم البولى

سومات (عديد الريبوسومات) Polysomes.

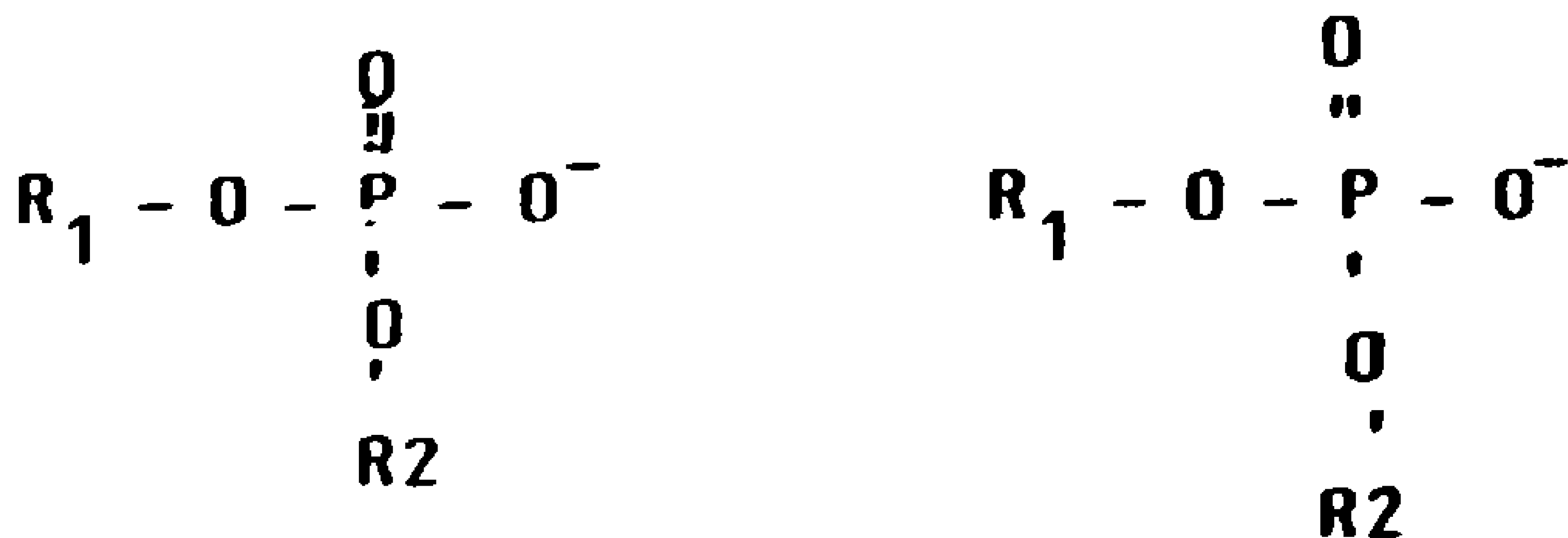
ب ـ النواة Nucleus أو المنطقة النووية Nuclear region:

تستخدم الصبغات القاعدية Basic dyes لصبغ الكروماتين فى ذوات النواة الحقيقية مميزة بذلك النواه عن باقى السيتوبلازم . عند استعمال هذه الصبغات القاعدية للتعرف على النواة فى ذوات النواة البدائية ، فان كثافة الصبغ تبدو متساوية فى معظم الخلايا البكتيرية دون تمييز للنواه . ويرجع ذلك لوجود الريبوسومات بكثرة فى الخلايا البكتيرية . وتحتوى الريبوسومات كما هو معروف على نسبة عالية من الحمض النووى رن أ RNA وهى توجد فى السيتوبلازم . ولذلك فانه يلزم التخلص من هذه الريبوسومات من السيتوبلازم لامكان صبغ النواه بالصبغات القاعدية دون تداخل منها . ويمكن اجراء ذلك بمعاملة الخلايا بحمض الهيدروكلوريك أو انزيم الريبونيكليز RNase فيتحلل الحمض النووى رن أ (RNA) الريبوسومى . واجراء الصبغ بعد ذلك يظهر منطقة كثيفة اللون فى المركز ليس لها شكل منتظم فى الخلايا البكتيرية . ويوجد من هذه المناطق كثيفة اللون عدد يتراوح بين ٢ الى ٤ فى الخلايا النشطة النمو فى مرحلة النمو اللوغاريتمى شكل (٩ـ٦) . ويمكن مشاهدة نمو وانقسام الخلية تحت مجهر متباين الأطوار Phase contrast بشرط وضع البكتيريا فى وسط غذائى على الشريحة (على سبيل المثال محلول بروتين مركز) لزيادة التمييز بين السيتوبلازم والكروموسوم .

تتميز المنطقة النووية أو الجزء النووى Nuclear region فى الكائنات ذوات النواة البدائية بعدم وجود غشاء نووى Nuclear membrane كذلك الموجود فى الكائنات ذوات النواة الحقيقية Eucaryotes لذلك فان البكتيريا لا تحتوى على نواة حقيقية . وقد اعتبرت هذه الصفة (عدم وجود الغشاء النووى) فى البكتيريا سببا كافيا لفصل هذه الكائنات وتقسيمها فى مملكة منفصلة عن سائر الكائنات الأخرى التى تتميز بوجود الغشاء النووى .

وبدلا من وجود نواه حقيقية فان البكتيريا تحتوى على الحمـــــض النووى دى أوكسى ريبونيكليك Deoxyribonucleic acid الذى يرمز لـــه بالرمز د ن أ DNA فى صورة عارية لا يفصله عن مكونات السيتوبــــلازم الأخرى أى أغشية • وجزئ د ن أ الوحيد الذى يحمل كل الصفات الوراثية الخاصة بالخلية فى الكائنات ذات النواة الحقيقية هو عبارة عن حلقـــة مزدوجة السلسلة • ومقارنة بذلك فان ذوات النواة الحقيقية Eucaryotes توجد المعلومات الوراثية فى عدد من جزيئات الـ DNA المنفصلة عـــن بعضها ، وكل منها مرتبط بعدد من البروتينات مكونا تركيبا معقـــدا يسمى الكروموسوم وتحاط كل الكروموسومات فى حالة عدم الانقسام بغشـــاء نووى يفصل هذه المواد الوراثية عن باقى مكونات السيتوبلازم •

ويصل طول جزئ د ن أ DNA الموجود فى الكائنات ذات النـواة البدائية Procaryotes عند فرده الى عدة مرات قدر طول الخليــــة التى استخلص منها • فمثلا بينما يكون طول خلية E. Coli حوالـــى ٢ ميكروميتر نجد أن طول جزئ الـ DNA المستخلص منها يصل ١٢٠٠ ميكروميتر ، وهذا يعنى أن الـ DNA يوجد فى الخلية منثنيا على بعضـه ثنيات كثيرة جدا • ويحتوى جزئ د ن أ الخاص ببكتيريا القولون علـــى حوالى ٥×١٠^{٦} من أزواج القواعد النيتروجينية المعروفة وهى (جوانيـــن ــ سيتوزين ــ ثيمين ــ أدنين) وبذلك يصل وزنه الجزيئى الى حوالـــى ٣×١٠^{٩} والحمض النووى د ن أ DNA عبارة عن جزئ يحتوى علـــى شحنة كهربية سالبة كبيرة حيث أن القواعد المتجاورة ترتبط عن طريـــق مجموعة فوسفات • وكل من هذه المجموعات تحمل مجموعة هيدروكسيـــل متأينة كما يلى :



وهذه الشحنة السالبة يجب أن تتعادل مع عدد مساو من الشحنات الموجبة للكاتيونات التى توجد ملازمة لجزيء د ن أ DNA فى ذوات النواة البدائية ، أما فى ذوات النواة الحقيقية فان تعادل الشحنات السالبة يتم بواسطة عدد كبير من البروتينات القاعدية (ذات الشحنة الموجبة) والتى تعرف باسم الهستونات Histones . لذلك فهذه الهستونات تميز كروموسومات ذوات النواة الحقيقية ولا توجد فى ذوات النواة البدائية .

أهمية الكروموسوم فى التكاثر وبناء بروتينات الخلية

تستطيع الخلية البكتيرية بناء عدة آلاف من أنواع مختلفة من البروتينات ، كلا منها يحتوى على حوالى ٢٠٠ حمض أمينى مرتبين فى ترتيب خاص ينتج عنه النشاط الحيوى لهذه البروتينات ، وفقد هذا الترتيب أو نقص حمض أمينى واحد قد ينتج عنه فقد النشاط الحيوى الهام لهذه البروتينات . والمعلومات اللازمة لتوجيه بناء هذه البروتينات موجودة فى ترتيب النيوكليوتيدات ترتيبا خاصا فى الحمض النووى د ن أ DNA . ومعظم الحمض النووى د ن أ DNA البكتيرى يوجد فى الكروموسوم . ولكن نسبة بسيطة من الحمض النووى د ن أ يوجد فى جزيئات أصغر كثيرا من الكروموسوم تسمى البلازميدات ، وهى تشمل بعض المعلومات الوراثية اللازمة لبناء بعض البروتينات الخلوية ، وسنشرحها بالتفصيل فى جزء لاحق من هذا الفصل .

وتتكون نسخة طبق الأصل من الكروموسوم بعملية تسمى التضاعف Replication عن طريق انفصال السلسلتين وتكوين السلسلة المكملة لكل منهما على النسخة الأصلية تمهيدا لانقسام الخلية الأم الى خليتين بنويتين (شكل ١١ــ٢) ، ويتم بذلك التأكد من استلام الخليتين البنويتين المعلومات اللازمة لبناء كافة البروتينات الخلوية فى الخلية الأم .

أما نقل المعلومات الشفرية الموجودة فى ترتيب القواعد النيتروجينية فى الحمض النووى د ن أ DNA وتوجيهها لبناء البروتينات المختلفة فتتم فى عمليتين مختلفتين هما :

(١) نقل المعلومات الشفرية : Transcription:

وفيها تنقل المعلومات الشفرية من احدى السلسلتين في الحمض النووى د ن أ الى جزيء من الحمض النووى ر ن أ يسمى حمض الريبونيوكليك المرسال Massenger RNA ويرمز له بالرمز م ر ن أ mRNA ، ويتكون الحمض النووى م ر ن أ على احدى سلسلتى الحمض النووى د ن أ كسلسلة مكملة ناسخا المعلومات منها بواسطة انزيم خاص يسمى RNA Polymerase.

(٢) ترجمة المعلومات الشفرية Translation

وفيها تترجم المعلومات الشفرية الموجودة على الحمض النووى م . ر ن أ بواسطة الريبوسومات بواسطة نوع ثانى من حمض الريبونيوكليك يسمى حمض الريبونيوكليك الناقل Transfer RNA ويرمز له بالرمز ت ر ن أ tRNA الى بروتينات ، وينبغى الاشارة هنا الى أن الريبوسومات تحتوى على نوع ثالث من حمض الريبونيوكليك يسمى حمض الريبونيوكليك الريبوسومى Ribosomal RNA ويرمز له بالرمز ر ر ن أ rRNA أما جزيئات ت ر ن أ فيوجد منها أنواع عديدة ، وكل نوع منها متخصص لحمض أمينى معين يرتبط به . كما يستطيع كل نوع من أنواع ت ر ن أ التعرف على شفرة معينة فى م ر ن أ عند وجودها مع الريبوسومات (جدول ٩ـ١) لذلك فالحمض النووى ت ر ن أ الحامل لحمض أمينى معين (أ) يرتبط بالريبوسومات المرتبطة بالحمض النووى م ر ن أ فى موقع الشفرة الخاصة بالحمض الأمينى (أ) وينقل هذا الحمض الأمينى الى الريبوسومات التى ترتبها فى سلسلة وفقا لترتيب الشفرات على الحمض النووى م ر ن أ (شكل ٩ـ٧) .

ثانياً : المكونات غير الأساسية Variant components

١ـ الجدار الخلوى

هو أحد المكونات الهامة فى بناء الخلايا ذات النواة البدائية ،

ويعزى اليه الشكل المميز للخلية نتيجة لصلابته والمجموعة الوحيدة التى ليس لها جدار خلوى هى الميكوبلازما Mycoplasma . والتركيب الكيميائى للجدار الخلوى لخلايا البكتيريا يختلف بصفة عامة عن الجدار الخلوى للخلايا ذات النواة الحقيقية كخلايا النبات.

لذلك يعتمد أحيانا على التركيب الكيمائى للجدار الخلوى لكائن ما لمعرفة ما اذا كان ينتمى الى الكائنات ذات النواة البدائية أو الكائنات ذات النواة الحقيقية.

وكثيرا ما يصعب رؤية الجدار الخلوى بالمجهر الضوئى ، ولكن يمكن رؤيته بوضوح فى القطاعات الرقيقة للخلايا عند فحصها بالمجهر الالكترونى . وتختلف البكتيريا الموجبة لصبغة جرام عن البكتيريا السالبة لصبغة جرام فى بناء الجدار الخلوى لكل منهما كما هو موضح فى الصور المأخوذة بالمجهر الالكترونى والممثلة برسم توضيحى فى الشكل (٩ــ٨) . فالبكتيريا السالبة لصبغة جرام لها جدار خلوى معقد التركيب مكون من عدة طبقات ، بينما الجدار الخلوى فى البكتيريا الموجبة لصبغة جرام عادة مايتكون من طبقة واحدة وعادة أكثر سمكا من مثيله فى البكتيريا السالبة لصبغة جرام.

الطبقة الصلبة فى كل من البكتيريا السالبة والموجبة لصبغة جرام ذات تركيب كيماوى متشابه جدا وتسمى الببتيد وجليكان Peptidoglycane وقد تسمى أحيانا ميورين Murain أو ميوكوببتيد Mucopeptide ولكن الببتيد وجليكان هو الاسم الأكثر شيوعا الآن وقد اندثر الاسمان الآخران ، والببتيد وجليكان موجود فى جميع الكائنات ذات النواة البدائية التى تكون جدارا خلويا فيما عدا البكتيريا التابعة للجنسين Halobacterium و Halococcus وهذه البكتيريا من النوع الذى يتطلب تركيزا عاليا من الملح بصفة اجبارية Extreme halophiles فى البيئة ، ولذلك فوجود جدار خلوى صلب ليس ضروريا لها . ولا يحتوى الجدار الخلوى لأى من الكائنات ذات النواة الحقيقية على هذه المادة (الببتيد وجليكان).

الشفرة الوراثية

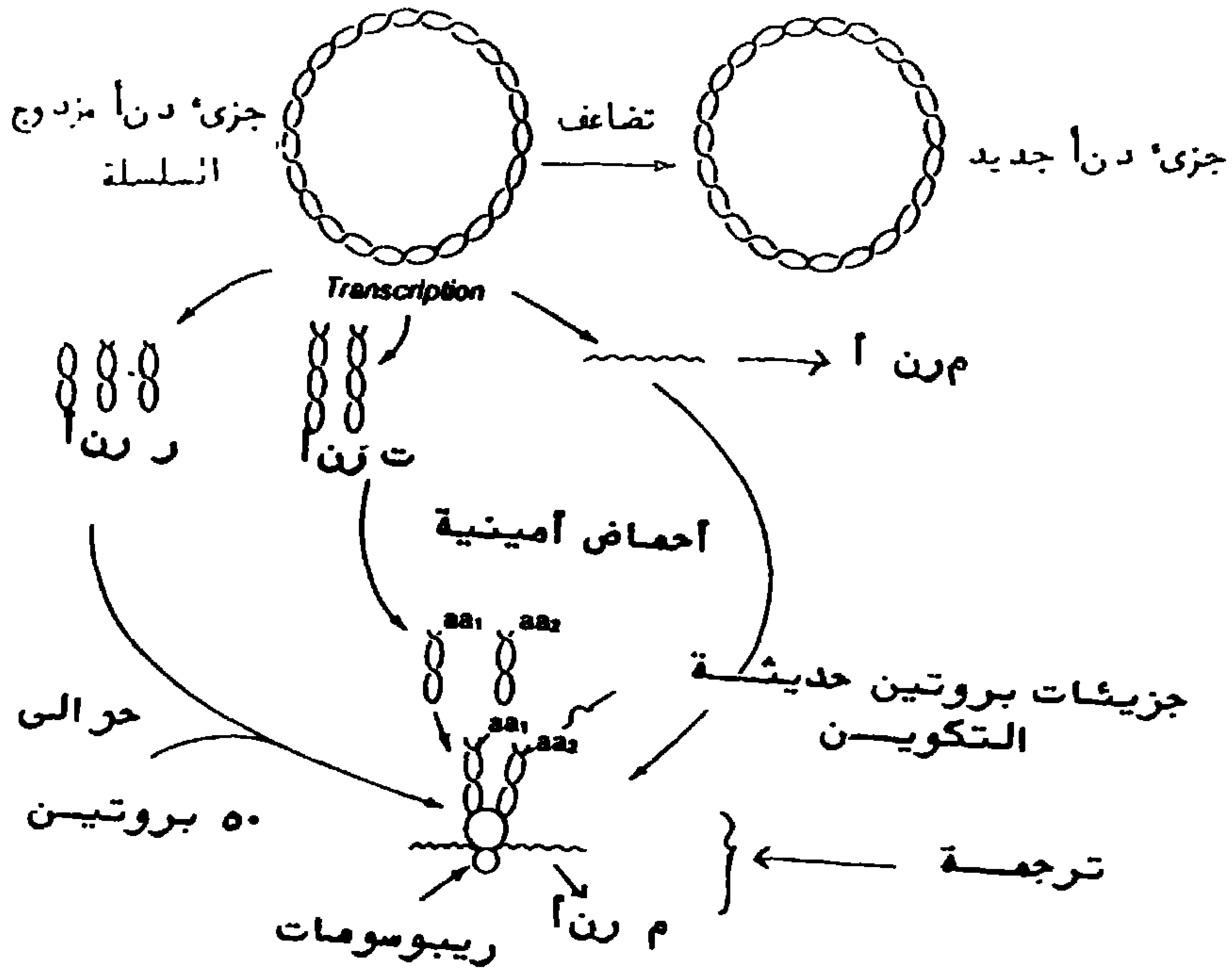
FIRST LETTER	SECOND LETTERS U		C		A		G	
U	UUU	phe	UCU	ser	UAU	tyr	UGU	cys
	UUC	phe	UCC	ser	UAC	tyr	UGC	cys
	UUA	leu	UCA	ser	UAA	(none)	UGA	(none)
	UUG	leu	UCG	ser	UAG	(none)	UGG	try
C	CUU	leu	CCU	pro	CAU	his	CGU	arg
	CUC	leu	CCC	pro	CAC	his	CGC	arg
	CUA	leu	CCA	pro	CAA	glu-N	CGA	arg
	CUG	leu	CCG	pro	CAG	glu-N	CGG	arg
A	AUU	ileu	ACU	thr	AAU	asp-N	AGU	ser
	AUC	ileu	ACC	thr	AAC	asp-N	AGC	ser
	AUA	ileu	ACA	thr	AAA	lys	AGA	arg
	AUG	met	ACG	thr	AAG	lys	AGG	arg
G	GUU	val	GCU	ala	GAU	asp	GGU	gly
	GUC	val	GCC	ala	GAC	asp	GGC	gly
	GUA	val	GCA	ala	GAA	glu	GGA	gly
	GUG	val	GCG	ala	GAG	glu	GGG	gly

جدول ١٩ـ١ : الشفرة الوراثية المستخدمة فى بناء البروتينات المختلفة ... وقد استخدمت الرموز الانجليزية للسهولة ٠

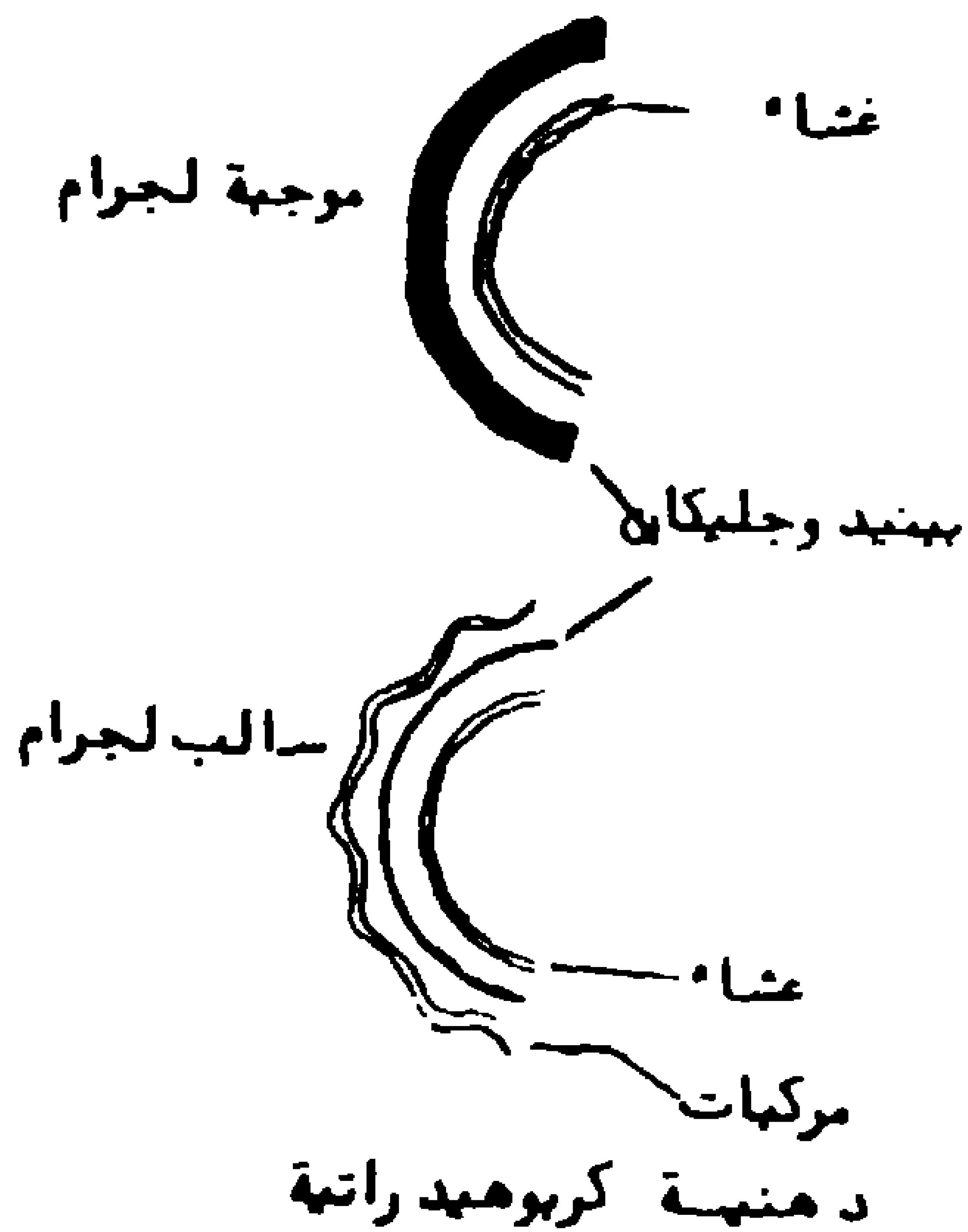
ـ رُمز للأحماض الأمينية بالأحرف الثلاثة الأولى من اسمها باللغة الانجليزية فيما عدا جلوتامين glu-N اسبراجين asp-N ايزوليوسين ileu

ـ الشفرات UAG ، UGA ، UAA هى شفرات لا تعنى أى شئ ووجودها يؤدى الى انتهاء السلسلة الببتيدية عندما تصل اليها الريبوسومات ٠

والشفرة تقرأ بالحروف الأولى للقواعد النيتروجينية الأربعة المعروفة فى الحمض النووى رنأ جوانين (G) أدنين (A) يوراسيل (U) وسيتوزين (C)



شكل ٩ــ٧ : رسم تخطيطي يوضح أهمية الكروموسوم في بناء الأحماض النووية والبروتينات



شكل ٩ــ٨ : رسم تخطيطي للمقارنة بين الجدار الخلوى في كلا من البكتيريا الموجبة والسالبة لصبغة جرام حيث توجد طبقة سميكة من مادة الببتيد وجليكان في الموجبة لجرام ... بينما تكون هذه المادة طبقة رقيقة جدا في البكتيريا السالبة لصبغة جرام.

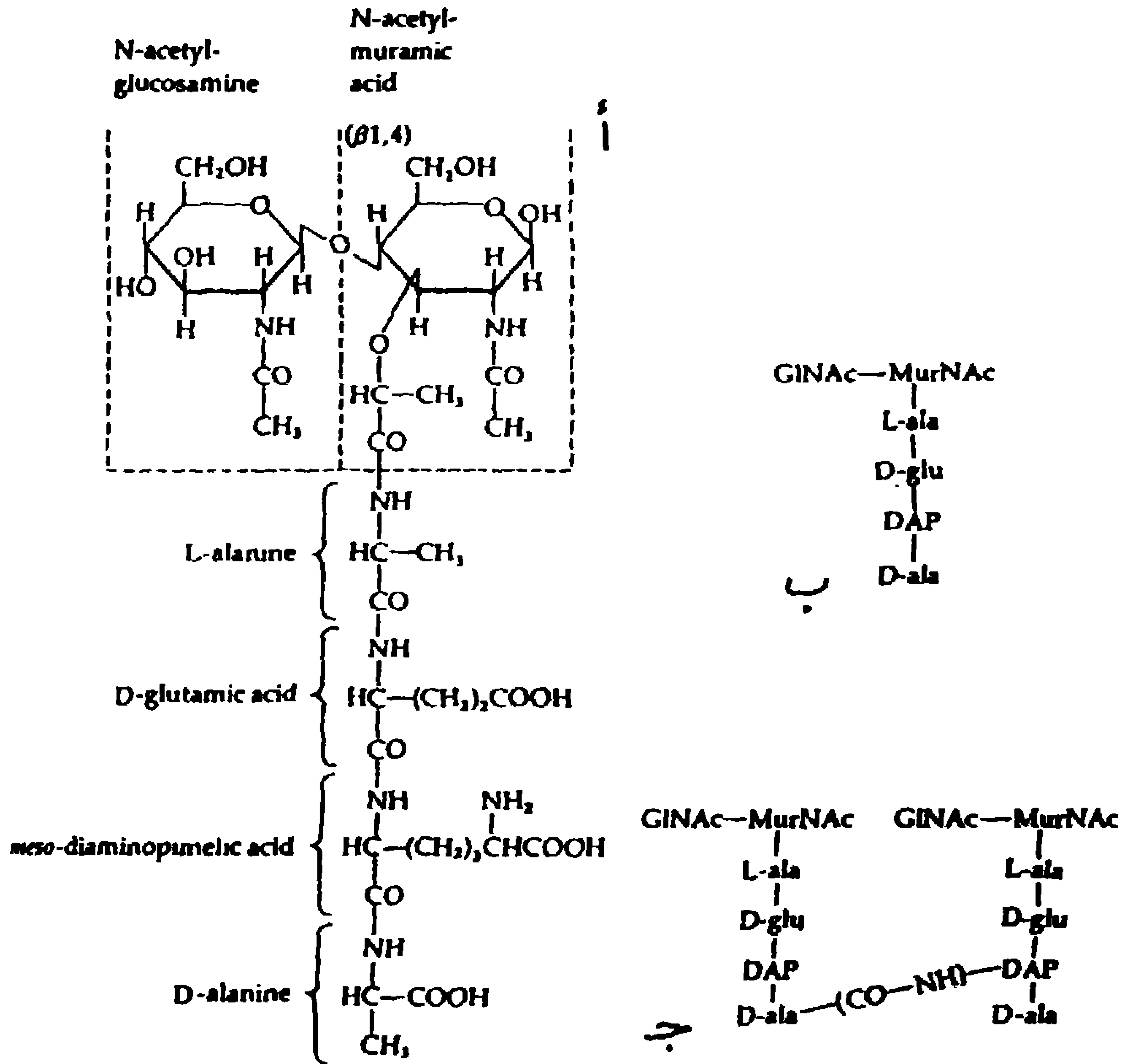
والببتيد وجليكان مركب معقد ناتج عن تكثف Polymer نوعين من السكريات الأمينية الأستيلية Acetylated Aminosugars وهما ن - أستيل جلوكوز أمين N-acetylglcosamine ، ن - أستيل حمض الميوراميك N-Acetylmuramic acid وعددا صغيرا من الأحماض الأمينية . كما تتميز هذه المادة (الببتيد وجليكان) باحتوائها على أحماض أمينية غير موجودة في الطبيعة بمعنى أن تلك الأحماض الأمينية لم يكشف عن وجودها قط في أي من البروتينات وذلك لوجودها في صورة المشابه الضوئي D (D-Configuration) وليس في صورة المشابه الضوئي L (L-configuration) الشائعة الانتشار في الطبيعة (شكل ٢ـ٦) . ويكون السكرين الأمينين السلسلة الأساسية للببتيد وجليكان N-Acetyl glucosamine (G) ، N-acetylmuramic acid (M) متبادلين ومرتبطين برابطة من نوع بيتا ١ـ٤ (β 1-4) (شكل ٩ـ٩) وكل جزيء ببتيد وجليكان يحتوى على ١٠ـ٦٥ جزيء سكر ثنائي . كما يوضح الشكل (٩ـ١٠) التركيب البنائي للحامض الأميني Diaminopimelic acid (DAP) مقارنا بالتركيب البنائي للحامض الأميني لايسين Lysine . ويوضح الشكل (٩ـ١١) التركيب البنائي لمادة الببتد وجليكان المعقدة بعد تكثف السكريات الثنائية المبينة في شكل (٩ـ٩) وكما هو واضح فان مجموعة الكربوكسيل في حمض الميوراميك Muramic acid تحمل سلسلة من أربعة أحماض أمينية هي كالآتي :

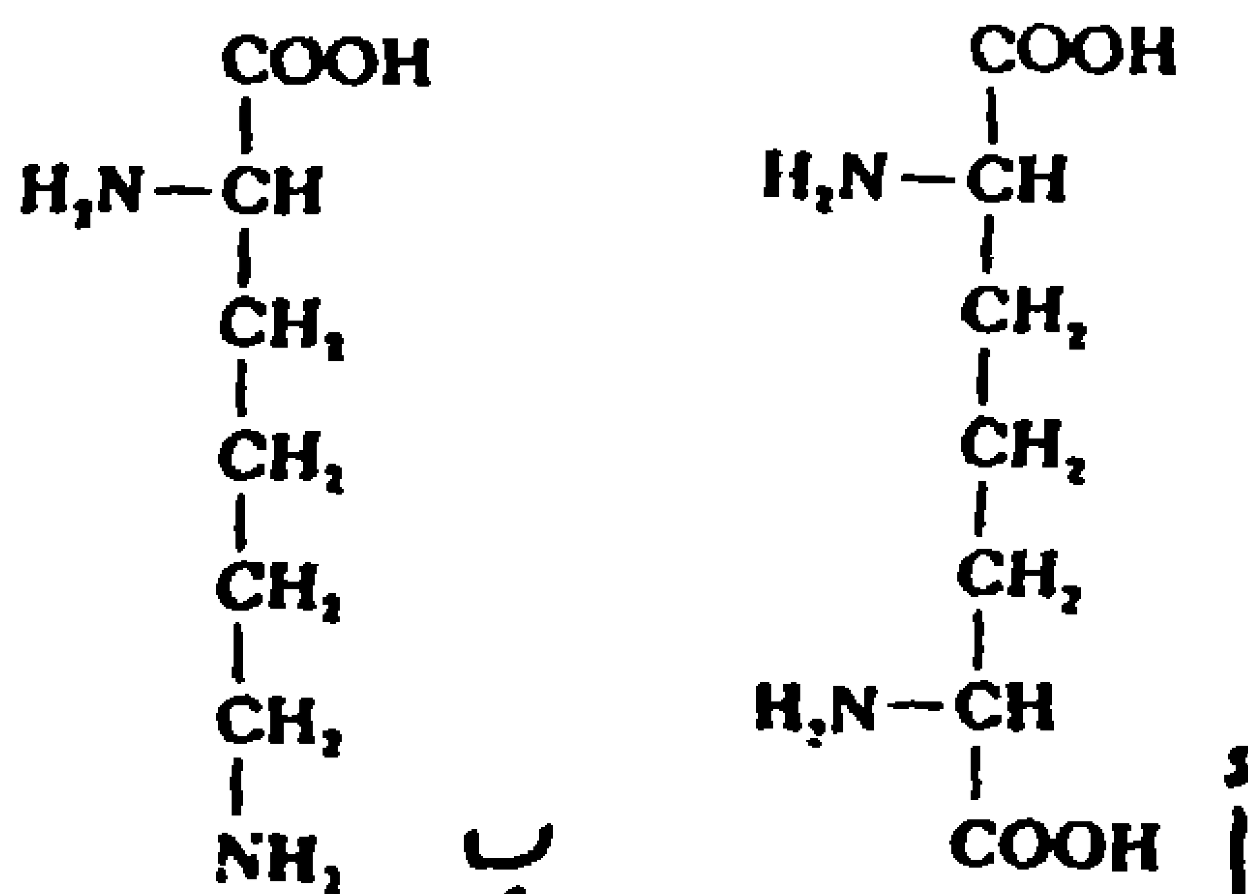
L - alanine D - glutamic acid L-diaminopimolic acid(DAP)

D - alanine - COOH

وهذا هو أكثر الترتيبات شيوعا في ترتيب الأحماض الأمينية . ومن الملاحظ أن الأحماض الأمينية ذات المشابه الضوئي D تتبادل مع الأحماض الأمينية ذات المشابه الضوئي L . كما تتشابك السلاسل الببتيدية بقناطر (بروابط عرضية) Cross - linkage بواسطة روابط ببتيدية Peptide bonds بين أصل D-alanine في الوضع رقم (٤) من السلسلة مع DAP في سلسلة أخرى (شكل ٩ـ٩). وهذين النوعين من الروابط (الرابطة الجلوكوسيدية Glycosidic bonds والرابطة الببتيدية Peptide bonds) معا يحفظان ثبات الجزيء الكبير للببتيد وجليكان مكونا شبكة جزيئية دقيقة شبيهة بكيس القماش ذو أبعاد كبيرة جدا مقارنا بالجزيئات الحيوية الأخرى . وهذا الجزيء يتشكل

شكل ٩ـ٩ : التركيب العام للببتيد وجليكان :
أ ـ وحدة بنائية كاملة توضح الروابط بين السكريات الأمينية التي تشكل السلسلة الأساسية في جزيء الببتيد وجليكان والروابط بين حمض الميوراميك والأحماض الأمينية .
ب ـ رسم توضيحي مبسط للتركيب الموضح في أ .
جـ ـ رسم توضيحي للروابط بين السلاسل الببتيدية Cross linkage





شكل ٩ـ١٠ : التركيب البنائي
أ ـ للحامض الأميني داي أمينو بيمليك DAP
ب ـ الحامض الأميني لايسين للمقارنة .

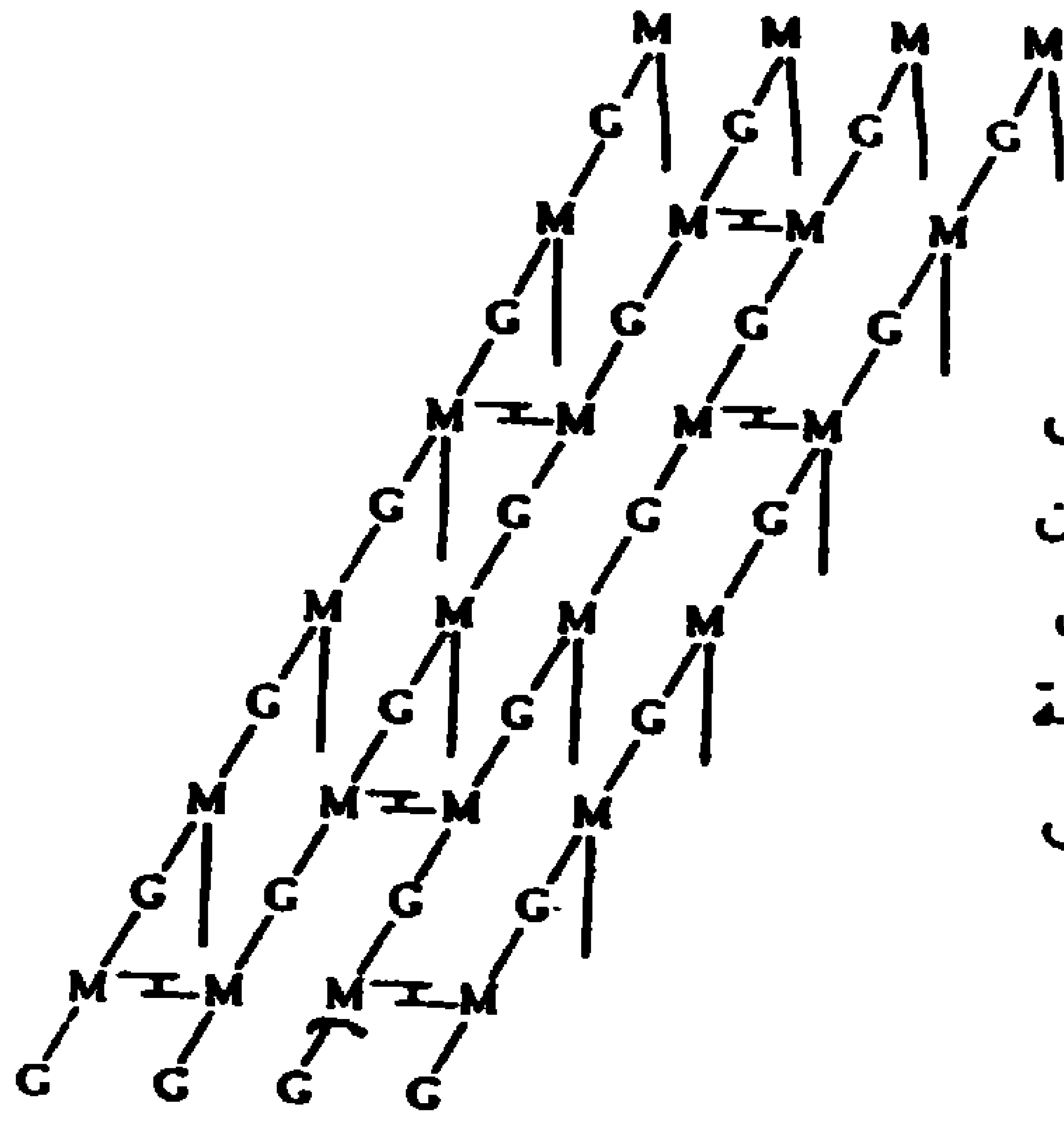
على صورة كيس يحتوى بداخله على البروتوبلاست Protoplast ونظـــرا لصلابة تركيب هذه المادة (الببتيد وجليكان) فان الخلية تأخذ شكلهـا منه ، كما أن هذه الشبكة الجزيئية تحمى الخلية من الانفجار في الوسـط المائى أو الأوساط ذات الضغط الأسموزى الأقل من الضغط الأسمـــوزى للسيتوبلازم .

التركيب الموضح في الشكل (٩ــ٩) هو الأكثر شيوعا في جدر خلايا البكتيريا فهو موجود في كل البكتيريا السالبة لصبغة جرام وعدد كبيـــر من البكتيريا الموجبة لصبغة جرام . ولكن يوجد حالات محدودة تختلف عن هذا الترتيب خاصة في البكتيريا الموجبة لصبغة جرام حيث يحل أحمـــاض أمينية ثنائية الأمين Diamino acid محل (DAP) كما أن طـــول السلسلة الببتيدية في حمض الميوراميك قد تختلف أيضا وكذلك تختلـــف القنطرة الببتيدية المتكونة بين سلسلتين متجاورتين عن طريق رابطـــة القنطرة Cross-linkage . وفي الوقت الحالى يعتبر التركيب البنائـــى الأول للببتيد وجليكان صفة تقسيمية هامة ضمن البكتيريا الموجبة لصبغـــة جرام . أما في البكتيريا السالبة لصبغة جرام فان ترتيب الأحماض الأمينيـــة المذكور في شكل (٩ــ٩) شائع جدا ، ولا يشذ عنه الا بكتيريا الاسبيروكيتا حيث يحل الأورنثين L-ornithine محل الحمض الأمينى الـــعداى أمينوبيميلك (DAP) .

موقع الببتيد وجليكان في الجدار الخلوى :

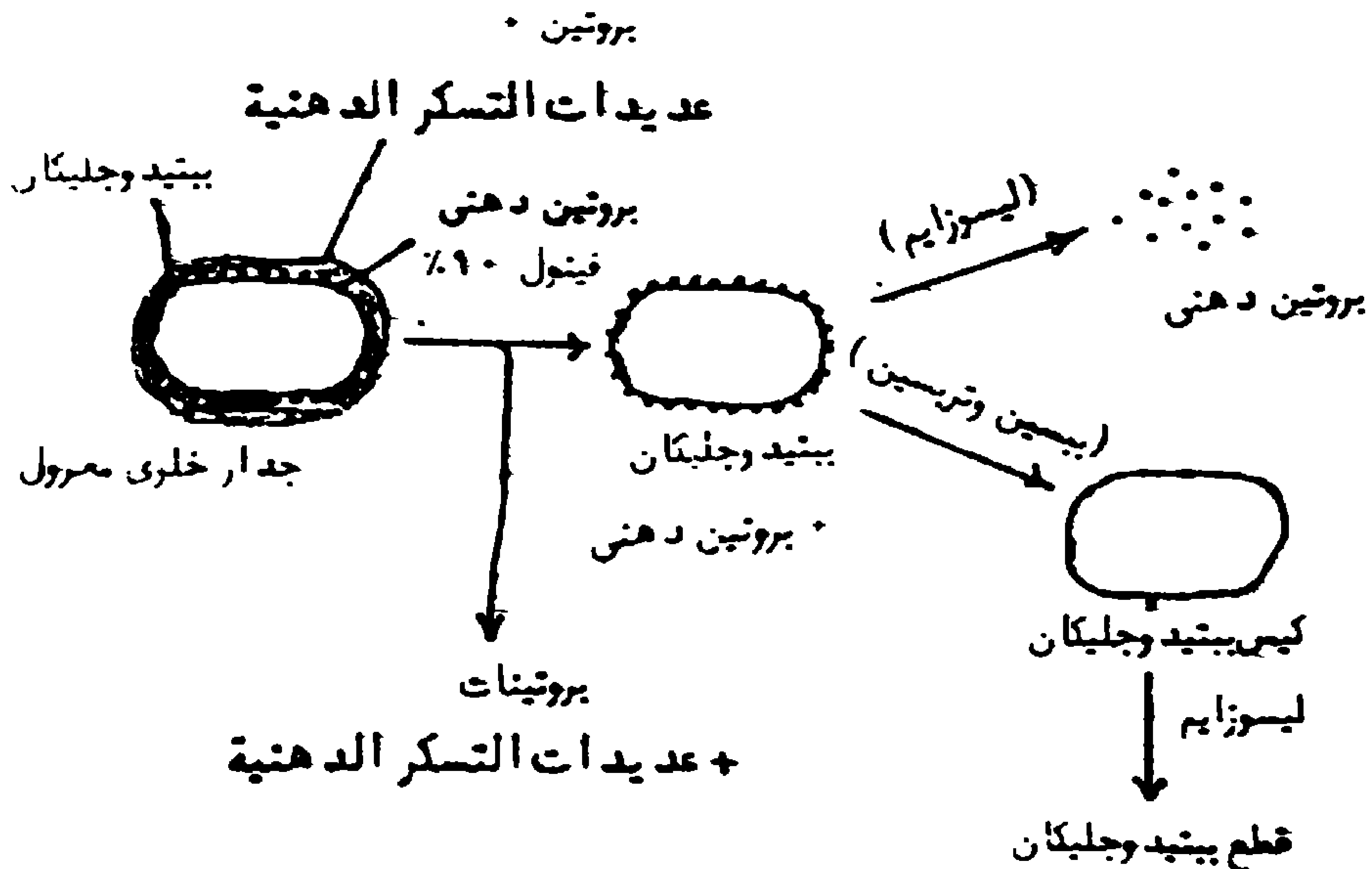
١ــ البكتيريا السالبة لصبغة جرام :

تحتوى الجدر الخلوية للبكتيريا السالبة لصبغة جرام على نسبـــة منخفضة نسبيا من الببتيد وجليكان ، وتتراوح هذه النسبة بين ٥ــ١٠ ٪ من وزن الجدر الخلوية ونادرا ما تزيد عن ١٠ ٪ .وتقع هذه الطبقة بعـــد الغشاء الخلوى مباشرة فهى أول طبقات الجدار الخلوى من الداخـــل في هذا النوع من البكتيريا ، ويمكن عزلها على هيئة كيس رقيق يحتـــوى بداخله على مكونات الخلية الأساسية بعد ازالة الطبقات الأخرى مـــن



شكل ٩ـ١١ : رسم توضيحي للشبكة التي تتكون من تشابك سلاسل البيتيد وجليكان لتكوين الكيس الصلب للجدار الخلــوى الذى يحتفظ بداخله بمكونات الخليـــة
M ترمز لحامض الميوراميك الأستيلــي
N-acetyl muranic acid
G ترمز لـ N-acetyl glucosamine
مرتبطة برابطة جلوكوسيدية β-1-4
الخطوط الرأسية تمثل سلاسل ببتيدية من أربعة أحماض أمينية ، أمـــا الرمز —I— فيرمز الى الروابط بين السلاسل Cross -linkage

شكل ٩ـ١٢ : رسم توضيحي للخطوات المختلفــــة لتجزىء الجدار الخلــوى الى مكوناته .



الجدار الخلوى بالطرق المناسبة التى لا تؤدى الى تحطيم طبقة الببتيد وجليكان (شكل ٩ـ١٢) ٠

ويحتوى الببتيد وجليكان الخاص بالبكتيريا السالبة لجرام على درجة منخفضة من الروابط القنطرية (الروابط العرضية) Cross-linkage وعدد كبير من السلاسل الببتيدية غير مرتبطة ، كما يشاهد فى الشكل (٩ـ١١) كما أن سمك طبقة الببتيد وجليكان فى هذه البكتيريا رقيقة جدا ، وأوضحت الحسابات التى أجريت على أن كمية الببتيد وجليكان الموجودة فى العديد من البكتيريا السالبة لصبغة جرام لا تزيد عن طبقة جزيئية واحدة Monomolecular layer أو على الأكثر طبقتين جزيئيتين ٠

خارج كيس الببتيد وجليكان المذكور يوجد طبقة جدار خلوى خارجية لها نفس السمك والتركيب البنائى الذى للغشاء الخلوى Unit membrane ٠ لذلك فان فصل هذه الطبقة الخارجية (أحيانا يطلق عليه فصل الغشاء الخارجى Outer membrane) عن الغشاء الخلوى الأصلى أحيانا يمثل صعوبة واضحة ٠

وتتكون هذه الطبقة من بروتينات وفوسفوليبيدات Phospholipids وعديدات التسكر الدهنية Lipopolysaccharides .

أما الفوسفوليبيدات فهى شبيهة تماما بتلك الموجودة فى الغشاء الخلوى ، أما البروتينات فهى على درجة كبيرة من الاختلاف (ان لم يكن الاختلاف كليا) عن تلك الموجودة فى الغشاء الخلوى ٠ أما عديدات التسكر الدهينة Lipopolysaccharides فهى أحد المكونات الأساسية للطبقة الخارجية من الجدار الخلوى لمعظم البكتيريا السالبة لصبغة جرام ان لم يكن كلها ، وهى مركبات شديدة التعقيد ، ووزنها الجزيئى يزيد على ١٠,٠٠٠ كما أن تركيبها الكيميائى يختلف بكثرة بين أنواع البكتيريا المختلفة السالبة لصبغة جرام ٠

عديدات التسر الدهنية هذه تعتبر هي المركبات الأنتيجينية Antigenic الأساسية فى الخلية ، والتى يفرز ضدها الأجسام المضادة Antibodies ٠ ويمكن استخدام المركبات عديدة التسكر الدهنية

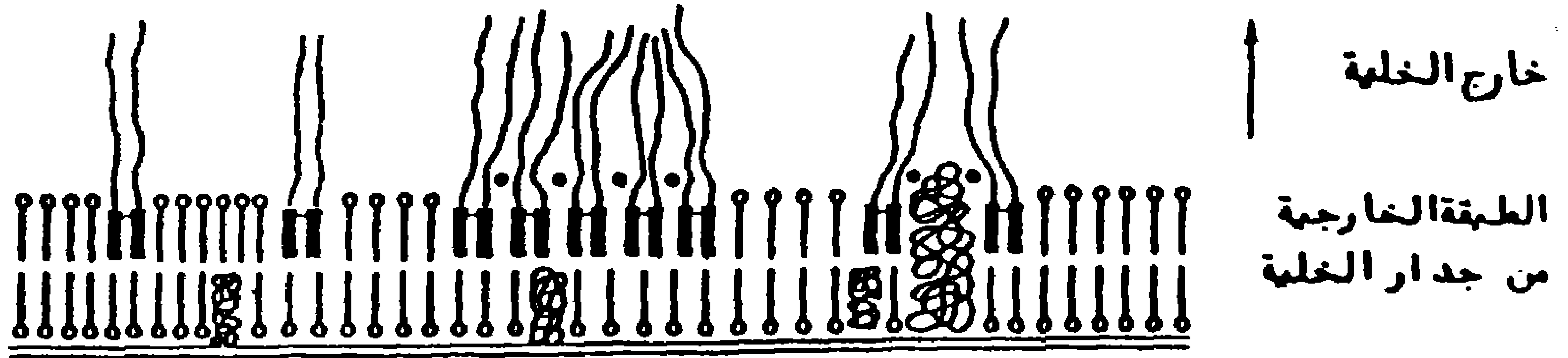
لبكتيريا معينة بعد فصلها من الجدار الخلوى وحقنها فى الحيوانات لانتاج الأجسام المضادة Antibodies اللازمة لتحصين هذه الحيوانات ضد البكتيريا المأخوذة منها عديدات التسكر الدهنية ٠

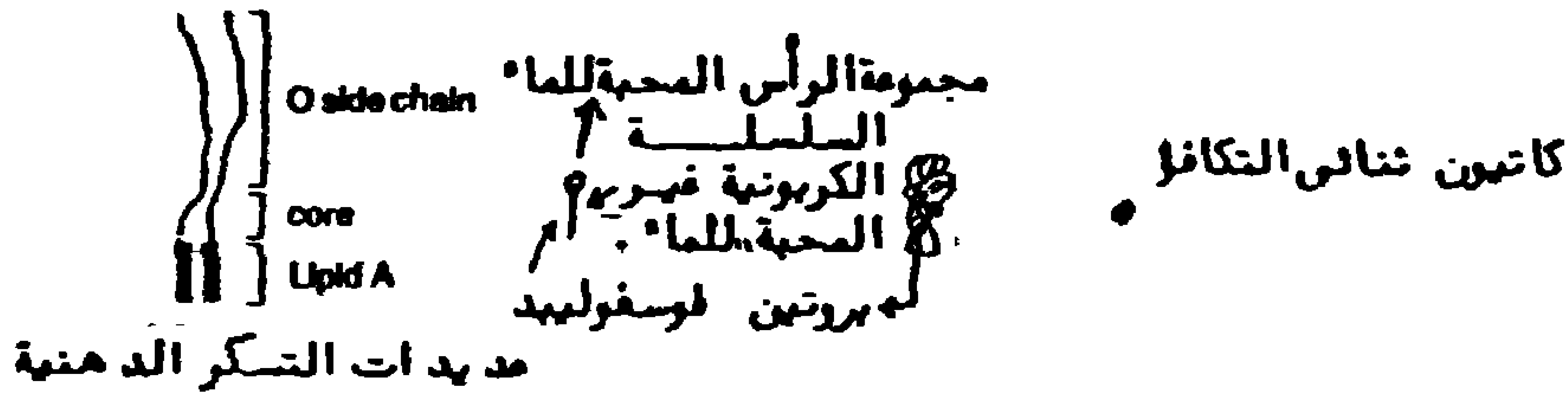
كما أن عديدات التسكر الدهنية فى بكتيريا معينة تعمل كمركز استقبال للفيروسات البكتيرية التى تصيب هذه البكتيريا ٠ وقد وجد أن الفيروسات البكتيرية Bacteriophages تمتز (تدمص) على سطح عديدات التسكر الدهنية المفصولة من الجدر الخلوية ، اذا كان الفيروس من النوع الذى يهاجم ذلك النوع من البكتيريا الذى فصلت منه عديدات التسكر الدهنية ٠ لذلك فان هذه المواد عديدة التسكر الدهنية لابد وأن يكون موقعها على السطح الخارجى للخلية حتى تمتز (تدمص) الفيروسات المتخصصة ٠ وقد اقترح Nikkaido الرسم التوضيحى المبين فى شكل (٩—١٣) للطبقة الخارجية من الجدار الخلوى وهى كما يلاحظ تشبه الى حد كبير الغشاء الخلوى ٠

وفى مجموعة بكتيريا القولون (وربما فى كل البكتيريا السالبة لصبغة جرام) وجد أن طبقة الببتيد وجليكان تحمل نوعا خاصا من البروتينات الدهنية Lipoprotein على سطحها الخارجى ٠ وهذه البروتينات الدهنية مرتبطة برابطة ببتيدية مع الحمض الأمينى داى أمينوبيميليك الموجود فى شبكة الببتيد وجليكان ٠ وتمتد هذه البروتينات الدهنية للخارج لتربط بين طبقة الببتيد وجليكان وطبقة الجدار الخلوى الخارجية ٠ ويوضح الرسم التخطيطى فى الشكل (٩—١٤) نموذج لتركيب الجدار والغشاء الخلويين وعلاقتهما ببعضهما ٠

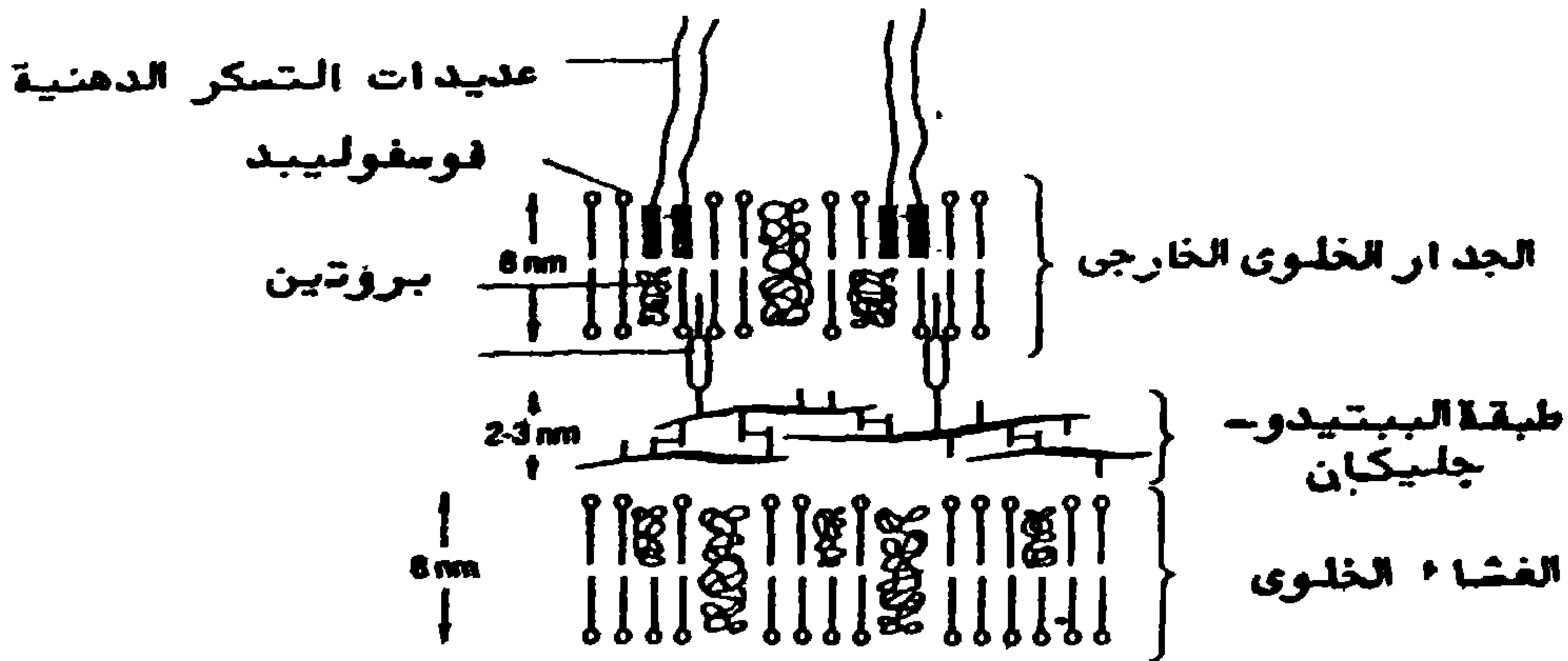
٢— البكتيريا الموجبة لصبغة جرام :

يشكل الببتيد وجليكان Peptidoglycane حوالى ٤٠ الى ٩٠٪ من الوزن الجاف للجدار الخلوى ٠ ويعتبر الجدار الخلوى ذو تركيب أكثر تجانسا عن مثيله فى البكتيريا السالبة لصبغة جرام ٠ كما أن الجدار الخلوى أكثر سمكا (١٠—٥٠ نانوميتر) عن طبقة الببتيد وجليكان فى





شكل ٩ـ١٣ : تصور ممكن لترتيب المكونات الأساسية للطبقات الخارجية من الجدار الخلوى فى البكتيريا السالبة لصبغة جرام. LPS = عديدات التسكر الدهنية .



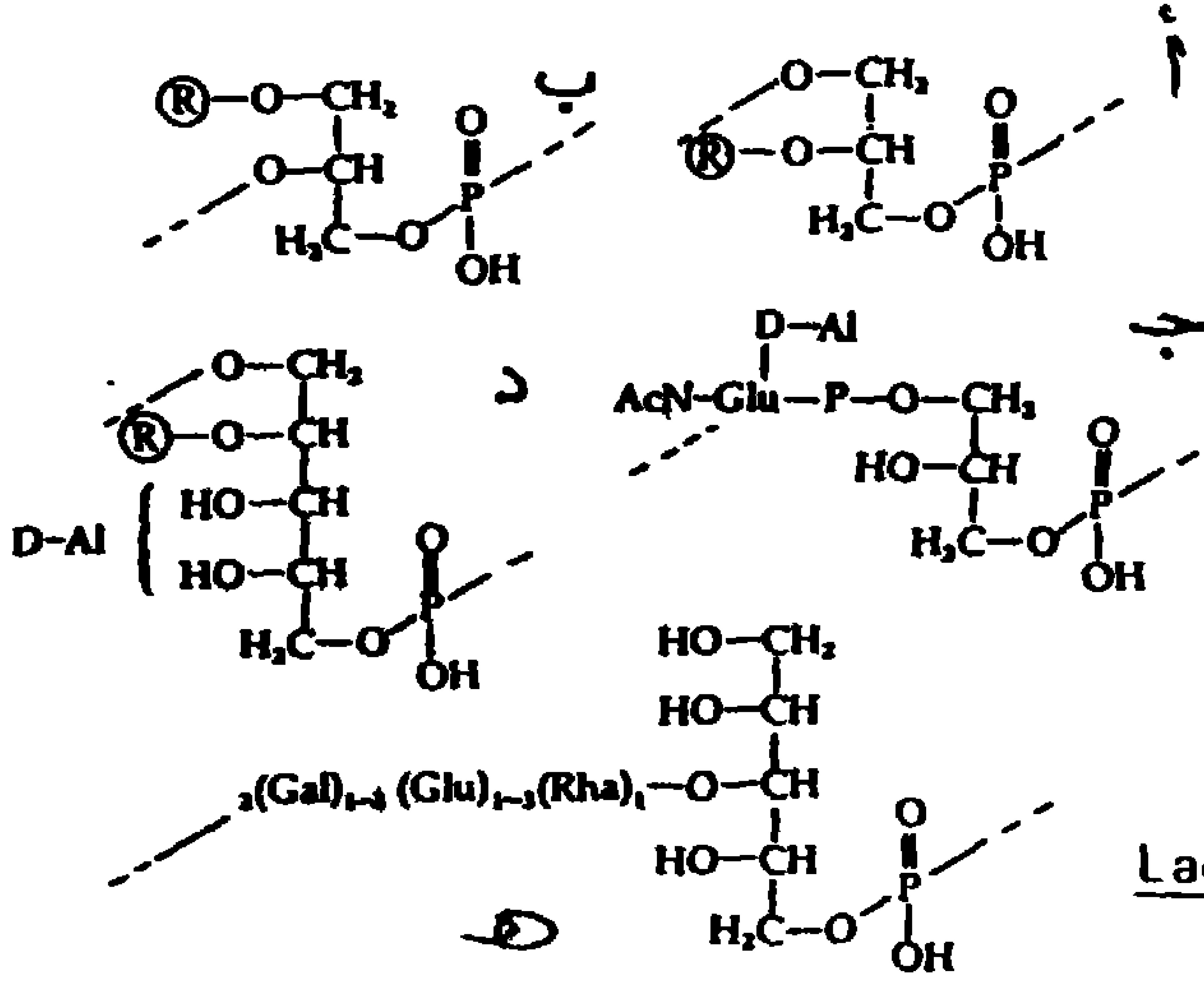
شكل ٩ـ١٤ : رسم توضيحى يوضح العلاقة بين الغشاء الخلوي والطبقة الداخلية والخارجية من الجدار الخلوي فى البكتيريا السالبة لصبغة جرام .

البكتيريا السالبة لصبغة جرام، وكما سبق أن ذكرنا فإن التركيب البنائي لطبقة الببتيد وجليكان في البكتيريا الموجبة لصبغة جرام على درجة من الاختلاف بالدرجة التي تمكن من استخدام هذه الصفة كوسيلة تقسيمية. كما أن شبكة الببتيد وجليكان مرتبطة بروابط مختلفة مع الجزيئات الكبيرة الأخرى المكونة للجدار الخلوي Macromolecules، وتشتمل هذه الجزيئات الكبيرة على عدد من المركبات عديدة التسكر Polysaccharides وعديدات الهيدروكسيل المفسفرة Polyol Phosphate Polymers المعروفة باسم أحماض التيكويك Teichoic acid.

وأحماض التيكويك عبارة عن مركبات قابلة للذوبان في الماء تحتوي على بقايا الريبيتول Ribitol أو الجليسرول Glycerol مرتبطة برابطة الاستر الثنائية للفوسفور Phosphodiester bond كما هو موضح في الشكل (٩ـ١٥).

وموقع حمض التيكويك في الجدار الخلوي غير معروف على وجه التأكيد، ولكن أجزاء منه تنفصل دائما مع الجدار الخلوي مرتبطا مع حمض الميوراميك، بينما يمكن فصل أجزاء منه مع الغشاء الخلوي، وهذا الأخير يسمى "حمض تيكويك الغشاء" membrane teichoic أو Lipoteichoic acid acid ويوجد مرتبطا مع الليبيدات Glycolipid الخاصة بالغشاء الخلوي.

ويشكل حمض التيكويك Teichoic acid أهمية خاصة من حيث قدرته الأنتيجينية Antigenic حيث تتكون له أجسام مضادة Antibobies. وقد أخذت هذه القدرة الأنتيجينية كدليل على أن حمض التيكويك يوجد على سطح الخلية الخارجي... كما أن وجود حمض التيكويك يعتبر صفة تقسيمية هامة، فالبكتيريا الموجبة لصبغة جرام يحتوي جدارها الخلوي على هذا الحمض، بينما تخلو منه جدر خلايا البكتيريا السالبة لصبغة جرام. ويمكن وضع الرسم التخطيطي الموضح في الشكل (٩ـ١٦) كنموذج للجدار الخلوي في البكتيريا الموجبة لصبغة جرام.



شكل ٩-١٥ :
بعض الوحدات التى تتكرر فى أحماض التيكويك وتتصـل بوحدات أخرى عن طريـق جزئ فوسفات.

أ — حامض تيكويك الجليسرول الموجود فى Lactobacillus casei

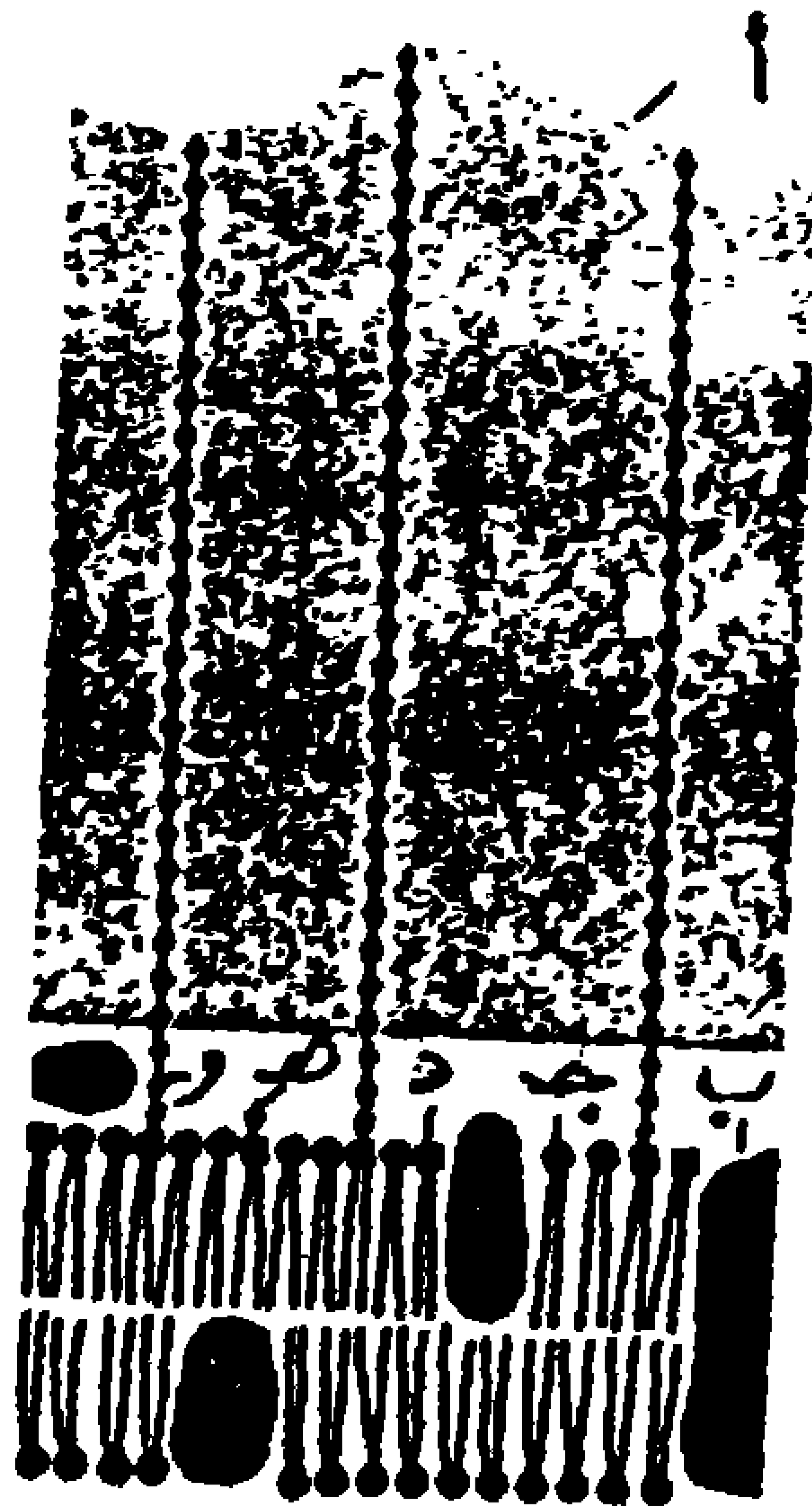
Ⓡ ترمز لـ D. al nine

ب — حامض تيكويك الجليسرول الموجود فى Actinomyces antibioticus Ⓡ ترمز لـ D-ala ine

جـ — حامض تيكويك الجليسرول الموجود فى Streptoccus lactis Ⓡ ترمز لـ D-ala ine

د — حامض تيكويك الريبيتول الموجود فى Bacillus subtilis Ⓡ ترمز لجلوكوز

هـ — حامض تيكويك الريبيتول الموجود فى Pneumococcal capsule



شكل ٩-١٦ : نموذج توضيحى للجدار الخلوى والغشاء الخلوى فى البكتيريـا الموجبة لصبغة جرام ويتضح فيه جزيئات حمض التيكويك الدهنى Lipoteichoic acid ممتدة خلال الجدار الخلوى.

أ — جدار خلوى   جـ — فوسفوليبيد

ب — بروتين   د — جليكوليبيد Glycolipid

هـ — فوسفاتيديل جليكوليبيد Phosphatidylglycolipid

و — حمض التيكويك الدهنى Lipoteichoic acid

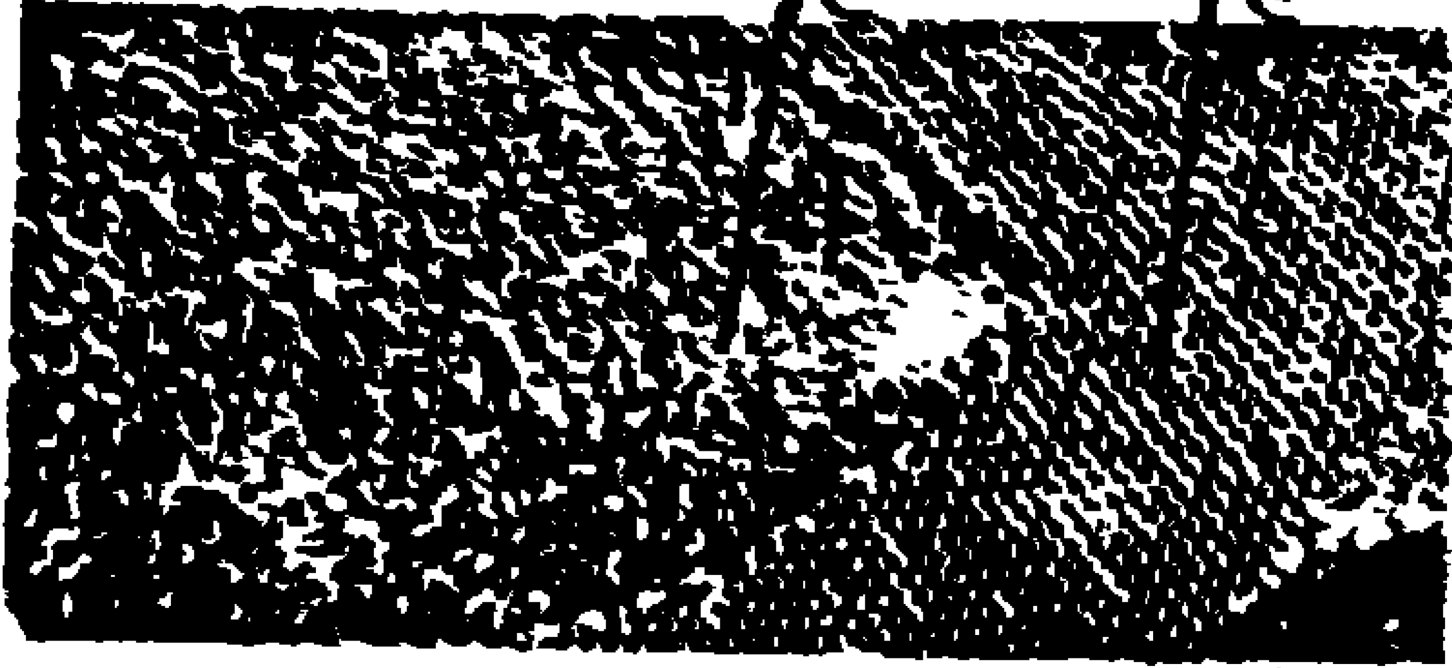
وبعد ايضاح موقع الببتيد وجليكان فى الجدار الخلوى بالنسبة للمكونات الأخرى فانه يلزم الاشارة أيضا الى أن الصور المأخوذة بالمجهر الالكترونى للسطح الخارجى للخلايا السالبة لصبغة جرام يختلف بدرجة كبيرة عن السطح الخارجى للخلايا الموجبة لصبغة جرام ، فالبكتيريا السالبة لجرام لها سطح يتميز بعدم الانتظام الى درجة كبيرة Highly irregular بينما يتميز السطح الخارجى للبكتيريا الموجبة لصبغة جرام بدرجة عالية من الانتظام (شكل ٩ـ١٧) ٠ وبصفة عامة فانه يمكن تلخيص الفروق فى التركيب البنائى لكلا النوعين من البكتيريا فى الجدول رقم (٩ـ٢) :

جدول ٩ـ٢ : المكونات الكيميائية الأساسية للجدار الخلوى للبكتيريا السالبة والموجبة لصبغة جرام

المكـون	البكتيريا السالبة لصبغة جرام		البكتيريا الموجبة لصبغة جرام
	الطبقة الصلبة الداخلية	الطبقة الخارجية	
Peptidoglycane ١ـ الببتيد وجليكان	+	—	+
Teichoic acid ٢ـ حمض تيكويك	—	—	+
Polysaccharides ٣ـ عديدات التسكر	—	—	+
٤ـ بروتين Protein	—	+	+
٥ـ Lipopoly saccharides	—	+	+ أو —
٦ـ Lipoprotein	— أو +	+	—



(أ)



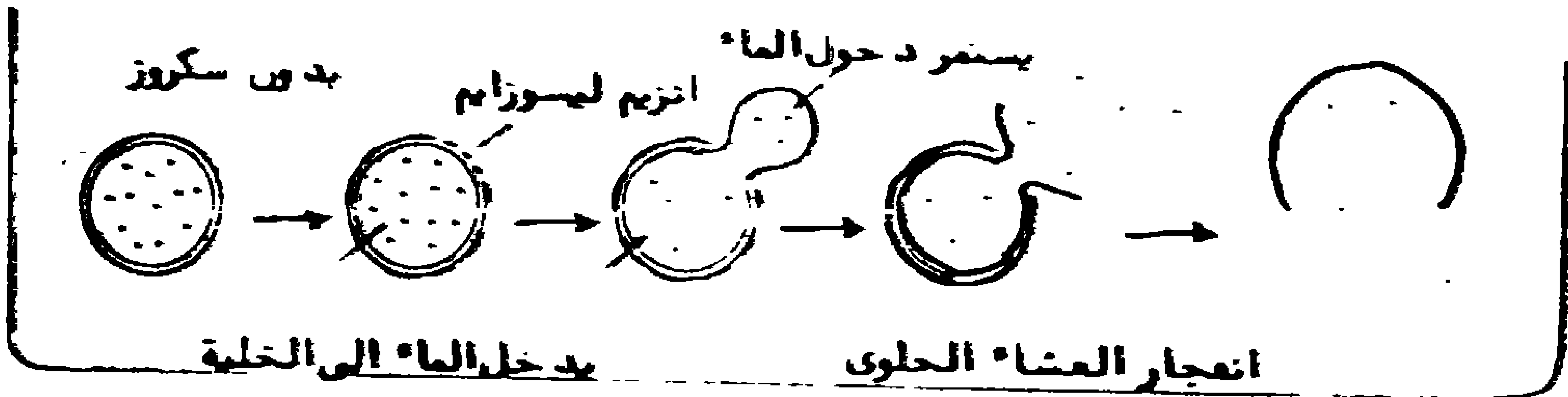
(ب)

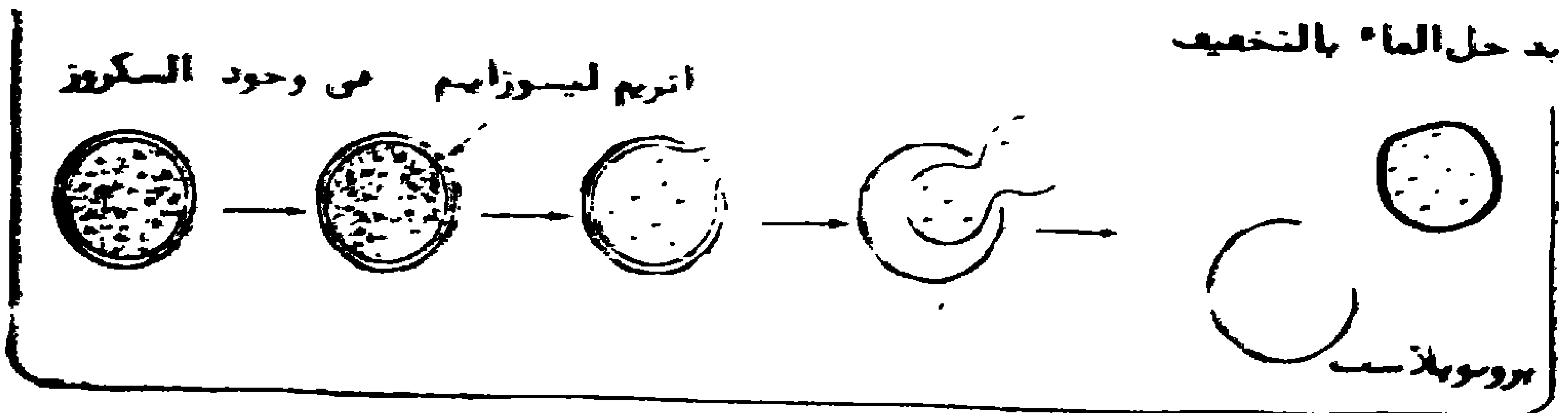
• شكل ٩ـ١٧ : صورة بالمجهر الالكترونى
أ ـ صبغ سالب لخلية E. coli لايضاح الدرجة العالية من عدم انتظام السطح الخارجى للخلية السالبة لصبغة جرام

Bayer 2 Anderson 1965. qsoc, Nalt. Acad. Sci. US. 54,1592

ب ـ تحضير Freezed etched لسطح البكتيريا البحرية Nitrosomonas مقطوعة بطريقة مائلة لايضاح الدرجة العالية من الانتظام فى السطح الخارجى للخلية الموجبة لصبغة جرام

• (غ د) = غشاء خلوى
(ج د) = جدار خلوى





شكل ٩ـ١٨ : انفجار البروتوبلاست فى المحاليل المخففة وتثبيت البروتوبلاست
• بالسكروز

علاقة تركيب الجدار الخلوى وخواص الصبغ للبكتيريا

اكتشف كريستيان جرام Christien gram فى سنة ١٨٨٤ م صبغة للتفريق بين مجموعات البكتيريا سميت باسمه (صبغة جرام Gram stain) بعد ذلك٠٠

وقد أدخل على طريقة جرام فى الصبغ العديد من التعديلات ، ولكن الخطوات الأساسية ظلت كما هى وتنحصر فى تثبيت غشاء البكتيريا على شريحة نظيفة ثم صبغه على التوالى بمحلول الصبغة القاعدية " الكريستال البنفسجى Crystal violet " ثم بمحلول يود مخفف فتكتسب جميع الخلايا لون أزرق قاتم ثم يعامل الغشاء بمذيب عضوى (أسيتون أو كحول) ٠ فالبكتيريا الموجبة لصبغة جرام تحتفظ باللون المعقد الناتج عن اليود ـ الكريستال البنفسجى (Crystal violet - iodine complex).أما البكتيريا السالبة لصبغة جرام فانها تفتقد اللون بسرعة عند معاملتها بالمذيب العضوى وتصبح عديمة اللون ـ والخطوة الأخيرة فى الصبغ تتضمن المعاملة بمحلول مخفف من الصفرانين أو الفوكسين الأحمر اللون حتى يمكن رؤية الخلايا التى فقدت اللون الأزرق للمركب المعقد (البكتيريا السالبة لصبغة جرام) ٠ أما البكتيريا الموجبة لصبغة جرام فهى تحتفظ باللون الأزرق كما سبق الاشارة اليه ، ومازال السبب الحقيقى لاختلاف خلايا البكتيريا فى قدرتها على الاحتفاظ باللون غير مفهوما على وجه الدقة ٠ الا أن المؤكد أن الخلايا الموجبة لصبغة جرام تفقد هذه الخاصية عند ازالة الجدار الخلوى بمعاملات مناسبة تؤدى للاحتفاظ بالبروتوبلاست فى حالة متكاملة ، مما يدل على أن وجود الجدر الخلوية ذو أهمية أساسية فى احتفاظ الخلية بالمركب الأزرق المعقد ، مع العلم بأن المركب المعقد الأزرق هذا لا يتحد ولا يرتبط بالجدر الخلوية فى البكتيريا الموجبة لصبغة جرام فعند فصل الجدر الخلوية وتنقيتها من باقى أجزاء الخلية ، فانها لا تحتفظ باللون الأزرق عند صبغها بطريقة جرام٠

ولقد اعتقد العلماء لزمن طويل أن وجود شبكة الببتيد وجليكان السميكة ذات الثقوب الضيقة فى البكتيريا الموجبة لصبغة جرام هو الذى يمنع خروج معقد الكريستال البنفسجى مع اليود من الخلية عند المعاملة بالمذيب العضوى بينما تسمح الثقوب الواسعة فى شبكة الببتيد وجليكان الرقيقة فى البكتيريا السالبة لصبغة جرام بخروج هذا المركب المعقد (الكريستال البنفسجى مع اليود) ولكن هذا الاعتقاد رغم شيوعه غير كاف لتفسير احتفاظ خلايا الخميرة (وهى لا تحتوى على ببتيد وجليكان فى جدرها الخلوية) بالمركب الأزرق المعقد الناتج عن الكريستال البنفسجى مع اليود عند صبغها بصبغة جرام ، فالخمائر كلها موجبة لصبغة جرام . كما أن هذا الاعتقاد أيضا غير كاف لتفسير فقد كثير من البكتيريا الموجبة لصبغة جرام القدرة على الاحتفاظ بالمركب المعقد الناتج عن اتحاد الكريستال البنفسجى مع اليود عند توقفها عن النمو النشط . فكثير من البكتيريا مثل بعض أنواع البكتيريا العصوية التابعة لجنس Bacillus ، وهى بكتيريا موجبة لصبغة جرام طالما كانت فى مرحلة نمو نشط Active growth ولكنها تتحول الى سالبة لصبغة جرام عندما يتوقف النمو . لذلك فان الحالة الفسيولوجية للخلية لا بد وأن تكون ذات أهمية فى تقدير ما اذا كان نوع ما من البكتيريا موجبا أو سالبا لصبغة جرام . وعلى ذلك يجب اجراء اختبار الصبغ بصبغة جرام على بكتيريا نشطة (نامية) وليس على بكتيريا توقفت عن النمو .

وعلى ذلك فان سعة ثقوب نسيج الببتيد وجليكان علاوة على الحالة الفسيولوجية للخلية تحدد ما اذا كان نوع البكتيريا موجبا او سالبا لصبغة جرام .

تكوين البروتوبلاست والبلزمة وانفجار البروتوبلاست:

علاوة على أن الجدار الخلوى مسئول عن الشكل المميز للخلية فانه مسئول عن صيانة الخلية عند وجودها فى وسط ذو ضغط أسموزى أقل من الضغط الأسموزى للسيتوبلازم كما سبق الذكر . فالمعروف أن معظم البكتيريا تعيش فى أوساط تقل كثيرا فى ضغطها الأسموزى عن الضغط الأسموزى داخل الخلية والذى يصل الى حوالى ١٠ ملليمولر Millimolar-

وحيث أن الماء يمر من الأوساط الأكثر تركيزا من خلال الانتشار الغشائى Osmosis فانه لولا وجود الجدار الخلوى للبكتيريا لاستمر مرور الماء من الخارج الى الداخل مع انتفاخ الخلية ثم انفجارها فى النهاية . ويمكن ايضاح ذلك بعمل تجربة يضاف فيها انزيم الليسوزايم Lysozyme (وهو انزيم يوجد فى الدموع وفى اللعاب وفى كثير من سوائل الجسم الحيوية وفى بياض البيض ، ويؤدى هذا الانزيم الى تحلل طبقة الببتيد وجليكان فى الجدار الخلوى) الى معلق مائى للبكتيريا فيؤدى ذلك الى تحرر البروتوبلاست من الجدار الخلوى ثم التشرب بالماء ثم الانفجار ، اما اذا أجريت نفس التجربة مع وجود كمية من السكر الذائب بحيث يصبح الضغط الأسموزى الخارجى معادلا للضغط الأسموزى الداخلى ، فان الخلية تتحرر من الجدار الخلوى وتفقد شكلها المميز ويتكون البروتوبلاست Protoplast والذى يتميز بشكل دائرى عادة مع ظهور بروزات منه من وقت لآخر . واذا وضعت هذه البروتوبلاست فى ماء أووسط أقل تركيزا فانها تنفجر فى الحال (شكل ٩-١٨) .

وعلى العكس من ذلك ، اذا وضعت البروتوبلاست فى وسط أكثر تركيزا فان الخلايا تتبلزم نتيجة خروج الماء منها وتصغر فى الحجم . وتحدث ظاهرة البلزمة تلك فى وجود أو عدم وجود الجدار الخلوى ، وتستغل هذه الظاهرة لحفظ الأغذية ضد الغزو بالكائنات الدقيقة ، فيضاف السكر الى بعض الأغذية كما يحدث فى صناعة المربى . ويتم تركيز الغذاء حتى يصل التركيز النهائى الى ٧٠٪ . . وعند هذا التركيز تتبلزم الخلايا بدرجة تمنع نموها فى المربى . كما أن الملح يستخدم أيضا بنفس الهدف (وهو بلزمة الكائنات الدقيقة) لحفظ كثير من الأغذية من التلف بواسطة الكائنات الدقيقة وأن كان استخدام الملح فى الحفظ أقل شيوعا من استعمال السكر نظرا للطعم المالح الشديد الذى تكتسبه الأغذية المملحة .

٢- الكبسولة Capsule والطبقة الهلامية Slime layer

تفرز بعض البكتيريا مواد عضوية لزجة خارج الخلية ، وقد تحيط

هذه المواد بالخلية وتظل ملاصقة لها فتعرف بالكبسولة Capsule • وقد تنتشر هذه المواد في البيئة المحيطة وتكسبها قواما خاصا فتسمى بالطبقة الهلامية Slime layer وكلا من الكبسولة والطبقة الهلامية لا تزيد عن كونها مواد غذائية مخزونة خارج الخلية وليس لها أهمية أساسية لوظائف الخلية الحيوية في البناء والهدم بدليل أن الكثير من البكتيريا يعيش بدونها ، كما أن بعض البكتيريا التي تكون الكبسولة قد تفقدها بالتطفر Mutation أو نتيجة لنموها في ظروف معينة دون أن تتأثر وظائفها الحيوية الأخرى (شكل ٩ـ١٩) •

وهذه المواد الخارجية قد تكون مكونة من عديدات الببتيد Polypeptide المكون من حمض أميني واحد وهو حامض الجلوتاميك D-glutamic acid ومرتبط في مجموعة الكربوكسيل جاما (γ) مخالفا للبروتينات العادية وذلك مثل ما يحدث في بعض أنواع البكتيريا العصوية من جنس Bacillus • وبعض هذه المواد الخارجية قد تكون مكونة من عديدات التسكر Polysaccharides كالسيليلوز والجلوكان Glucan وغيرها • (الجدول ٩ـ٣) •

وقد يكون للكبسولة دورا أساسيا في حماية الخلية كما يحدث في البكتيريا المرضية المعروفة باسم Stroptococcus pneumonia حيث تقوم الكبسولة في حالة وجودها بحماية البكتيريا من الالتهام بواسطة كرات الدم البيضاء Phagocytes .

ولذلك فان البكتيريا المحتوية على الكبسولة من هذا النوع تسبب شدة الاصابة بمرض الالتهاب الرئوى *Pneumonia* ، أما البكتيريا التي تفقد الكبسولة نتيجة طفرة ، فانها عادة لا تحدث اصابة أو تحدث أعراضا طفيفة نتيجة سرعة التهامها بواسطة كرات الدم البيضاء •

٢- التركيبات الأخرى التي توجد على سطح الخلية

أ ـ الأسواط Flagella :

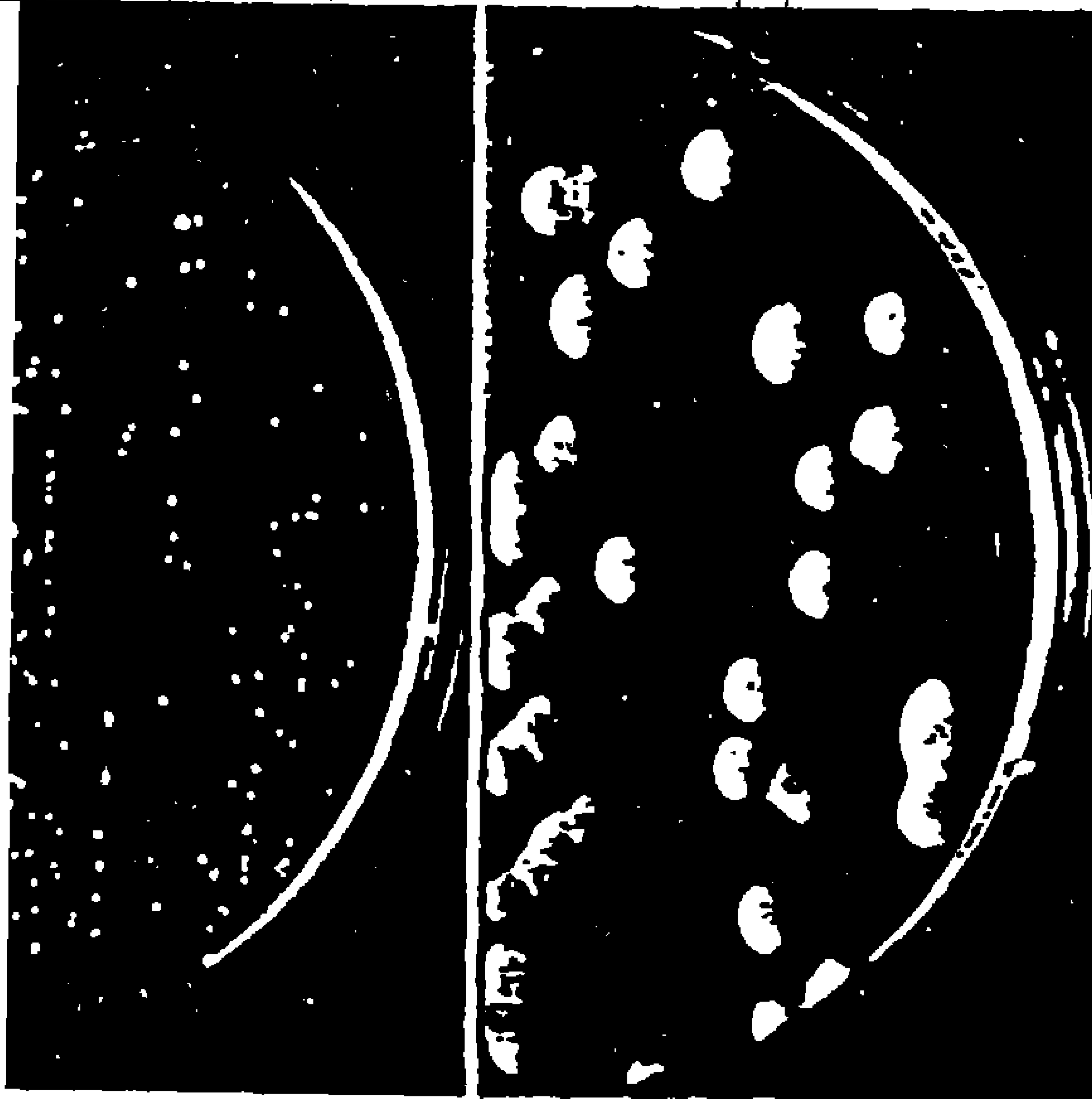
العديد من البكتيريا متحرك ، وهذه القدرة على الحركة تعتمد

شكل ٩ـ١٩ : تكوين المواد الكربوهيدراتية الخارجية بواسطة البكتيريا ·

بكتيريا ليوكونوستوك ميزنترويدز

Leuconostoc mesenteroides

أ ـ على مستنبت السكروز ·
ب ـ على مستنبت الجلوكوز
مظهر المستعمرات الكبير الهلامى على مستنبت السكروز يرجع الى بناء كميات كبيرة من المواد الكربوهيدراتية (دكستران) خارج الخلية ·



جدول ٩ـ٣ : التركيب الكيميائى للمواد المعقدة التـــى تفرزها البكتيريا خارج الخلية لتكوين ما يعرف بالكبسولة أو الطبقة الهلامية

المادة المعقدة	وحدة بنائهـــــا	التركيب	البكتيريا التى تكونـــــه
عديد حمــــض الجلوتاميك	حمض جلوتاميك (D)	(أ) سلسلة ببتيدية خارجية ناتجة تكوين رابطة ببتيدية بين مجموعة الأمين ومجموعة الكربوكسيل . γ Glutamyl-γ-glutamyl	باسيلس انثراكس B.anthrax باسيلس ميجاتيريم B. megaterium
سليلوز	جلوكوز	(ب) سلسلة كربوهيدراتية β glu 1 $\rightarrow$ 4 β glu	Acetobacter xylinum
جلوكان Glucan	جلوكوز	β glu 1 $\rightarrow$ 2 β glu	Agrobacterium tumefacious
حمض كولانيك Colanic	جلوكوز - جالكتوز - فيوكوز - حمض جلوكورونيك وبيروفيك .		بكتيريا القولون Entrits Pseudomonas aeruginosa Azotobacter vinelandii
عديدات اليورونيدات	حمض مانويورونيك حمض جلوكويورونيك		
عديدات سكرايدات النوع الثاني Type II	جلوكوز - رامنوز - حمض جلوكويورونيك . .		Streptococcus
النوع الثالث Type III	جلوكوز - حمض جلوكويورونيك	3-β glucuronyl 1 $\rightarrow$ 4 β glu cosyl	Streptococcus pneumonia
الدكسترانات Dextrans	جلوكوز وفراكتوز	αfru-β glu 1 - 6 β glu	Leuconostoc spp Streptococcus spp
ليفانات Levans	فراكتوز وجلوكوز	βglu-αfru 2 - 6 αfru	Pseudomonas spp. Xanthomonas spp. Bacillus spp. Streptococcus salivarius

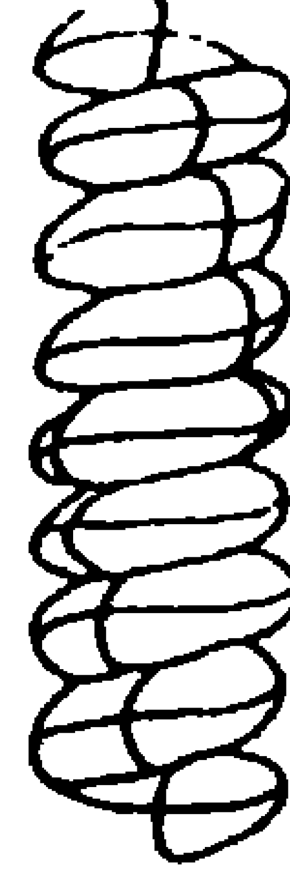
عادة على وجود أعضاء خاصة للحركة تسمى الأسواط Flagella (ومفردها سوط flagellum) وأسواط البكتيريا عبارة عن زوائد طويلة رفيعة (حوالى ٢٠ نانوميتر فى القطر) حرة من أحد الطرفين ومتصلة بالخلية من الطرف الآخر . والسوط الواحد لا يمكن رؤيته بالمجهر الضوئى مباشرة الا بعد صبغه بصبغة مناسبة مثل صبغة الفوكسين القاعدية Basic fucsin مع استعمال حمض التانيك Tannic acid كمادة رابطة بين السوط وجزيئات الصبغة على طول السوط حتى يمكن رؤية السوط بالمجهر الضوئى (شكل ٨ـ٧) ويمكن أيضا رؤية الأسواط بسهولة بواسطة المجهر الالكترونى ، وقد قسمت البكتيريا تبعا لتوزيع الأسواط عليها فيما سبق الى وحيدة السوط وسوطية الطرف وأيضا محيطية الأسواط (شكل ٨ـ٧) .

يتركب السوط البكتيرى من وحدات بروتينية Protein subunits تسمى الفلاجلين Flagellin مرتبة فى شكل حلقى ذو تجويف داخلى (شكل ٩ـ٢٠) وتختلف بروتينات الفلاحلين من بكتيريا الى أخرى ، ولكن بصفة عامة يمكن القول أن الفلاجلين يقل عن البروتينات الأخرى فى محتواه من الأحماض الأمينية الكبريتية والأحماض الأمينية العطرية Aromatic Amino Acids بينما يزيد محتواه من الأحماض الأمينية الكربوكسليلية (الحامضية) مثل حمض الجلوتاميك Glutamic acid وحمض الاسبارتيك Aspartic acid . ويتوقف شكل السوط وطول الموجه فيه على تركيب الفلاجلين الخاص به وأى طفرة تؤدى الى تغيير حمض أمينى واحد ينتج عنها تغير فى شكل السوط وطول الموجه فيه .

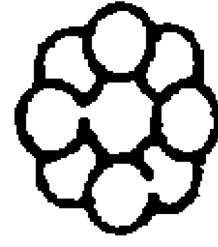
تختلف قاعدة السوط فى تركيبها عن باقى السوط ، فعند قاعدة السوط يوجد جزء عريض يسمى الخطاف (شكل ٩ـ٢١ ، ٢٢) وهو يربط بين خيط السوط الخارجي والجسم القاعدى Basel body للسوط . والجسم القاعدى للسوط عبارة عن جسم معقد يعمل على ربط السوط بغلاف الخلية Cell envelope . كما أن الجسم القاعدى Basel body والخطاف hook كلاهما مركبين من بروتينات تختلف عن بروتينات خيط السوط Filament ويتكون الجسم القاعدى من قضيب Rod مركزى صغير مركب عليه زوجين من الحلقات . ففى البكتيريا السالبة لصبغة جرام يكون

شكل ٩ ـ ٢٠ : نماذج لايضاح الشكل المحتمل لترتيب وحدات البروتيـــن لكلا من الأسواط والزوائد الجنسيـــة Sex Pilus التى توجد على سطـــح الخلية ٠



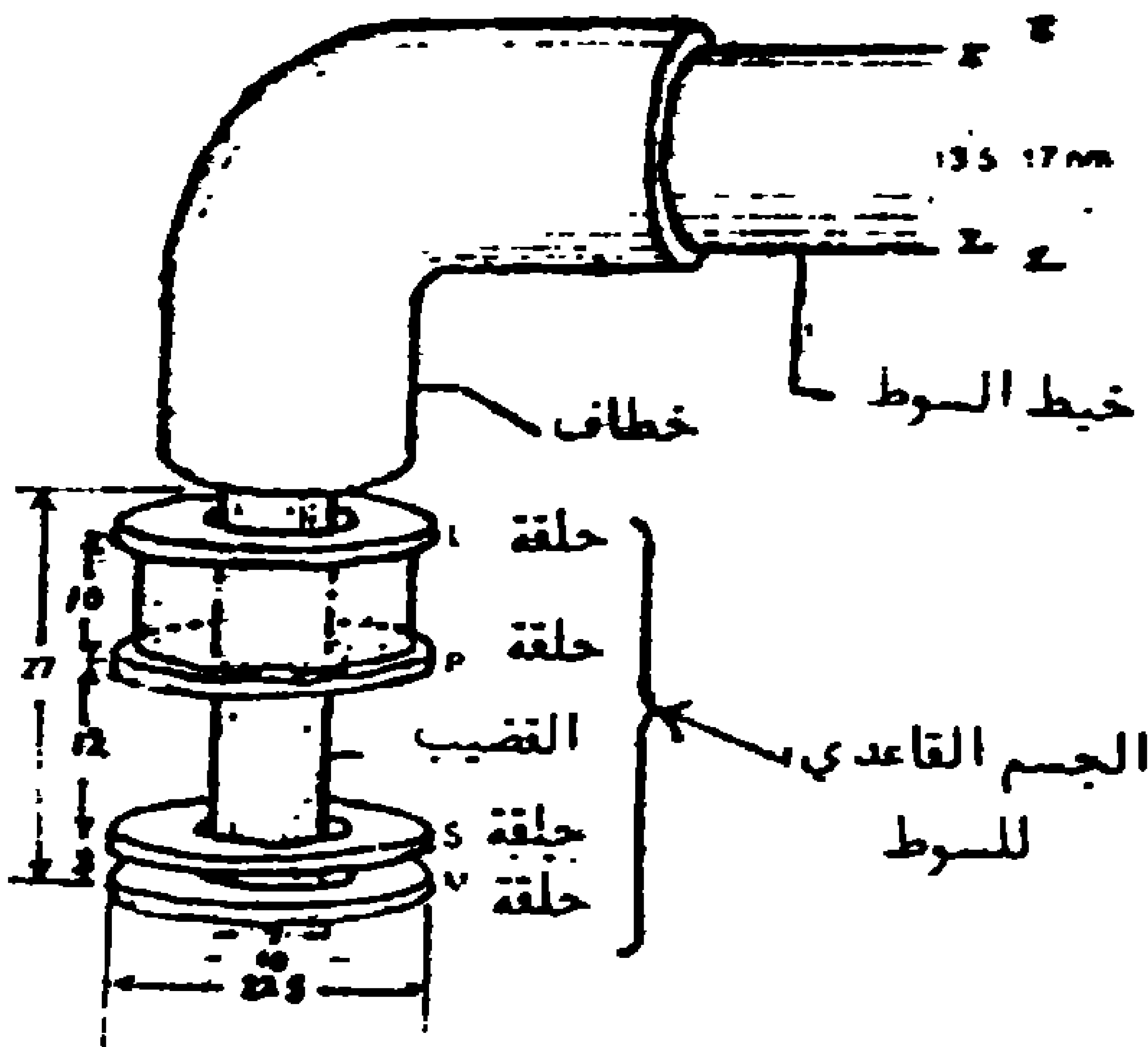


تركيب السوط فى بكتيريـا سالمونيللا تيفيموريـــم حلزونى مكون من نوعيـن من البروتينات أهمهـا الفلاجلين ووزنه الجزيئى ٤٠٫٠٠٠ دالتون ٠





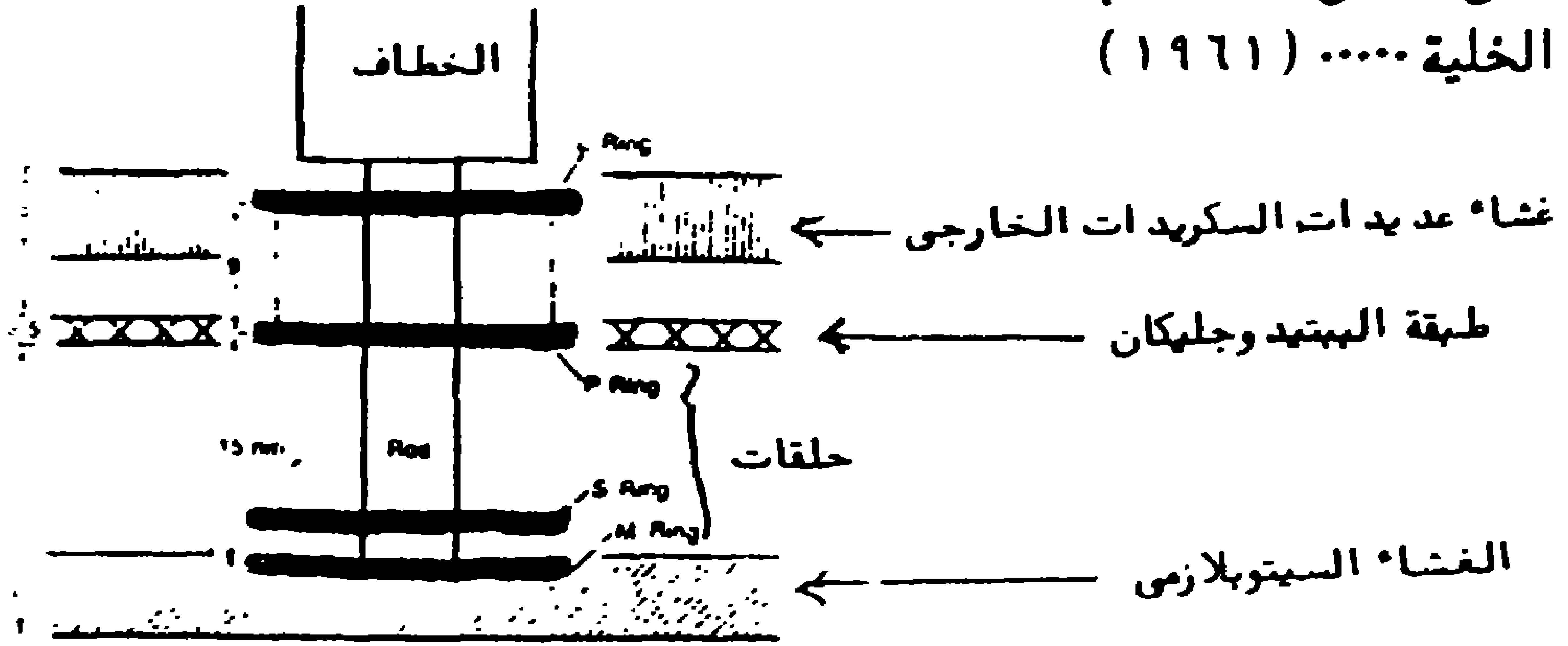
تركيب الزائدة الجنسية فى بكتيريا القولون E.coli مستقيم قطره ٧ نانوميتر مبنى من وحدات بروتين البلين Pilin وزنـــه ١٧٫٠٠٠ دالتون ٠



شكل ٩ ـ ٢١ : رسم تخطيطى لايضاح تركيب قاعدة السوط وأبعادها فى بكتيريا القولون E.coli

الأبعاد الموضحه على الرســـم بالنانوميتر ٠

شكل ٩ـ٢٢ : رسم تخطيطي يبين مكان اتصال الحلقات بأغلفـــــة الخلية ..... (١٩٦١)



الزوج الخارجي من الحلقات مرتبطا مع طبقة عديدات التسكر الدهنيـــة Lipo-Polysaccharides وطبقة الببتيد وجليكان Peptidoglycan فـــي الجدار الخلوى .

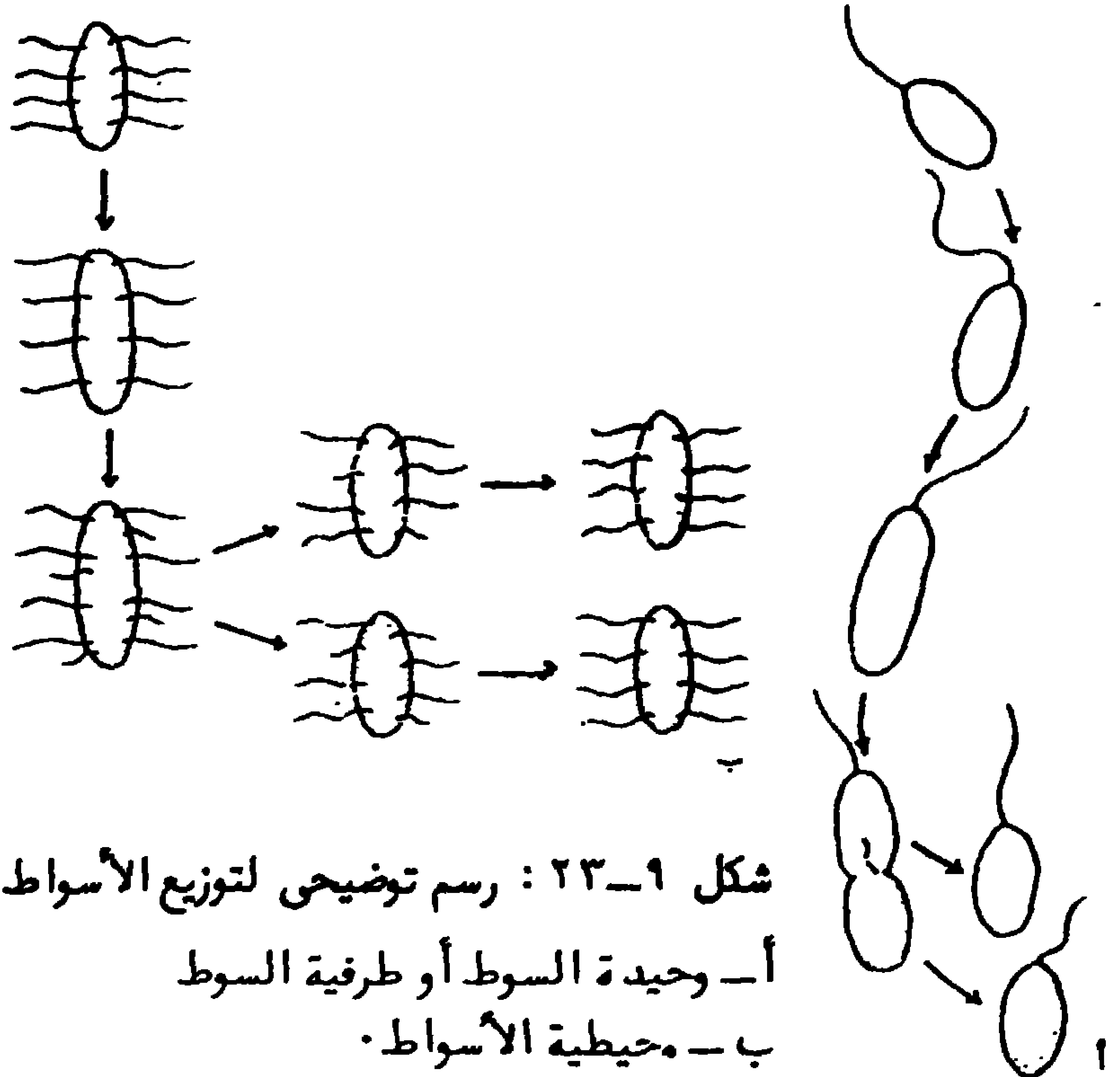
أما الزوج الداخلي من الحلقات فهو يكاد يقع عند مستوى الغشاء الخلوى Plasma membrane . أما فى البكتيريا الموجبة لصبغة جـرام حيث لا يوجد طبقة عديدات التسكر الدهنية lipopolysaccharides فان الزوج الخارجي من الحلقات يكون غائبا وتكون الحلقات الداخليـة هى الموجودة فقط . وفيما يبدو أن الحلقات الداخلية تكون كافية فـــي حالة البكتيريا الموجبة لصبغة جرام نظرا لكبر سمك طبقة الببتيد وجليكـان . وهذا الاختلاف على درجة كبيرة من الأهمية ، اذ يوضح أن الحلقـات الداخلية هى المهمة فى آداء وظيفة السوط .

النمو السوطي Flagellar growth

لا ينمو السوط من القاعدة مثل شعر الحيوانات ، ولكنه ينمو مـن القمة ، فجزيئات الفلاجلين Flagellin تتكون فى الخلية ثم تمر مـن داخل تجويف السوط لتضيف جزيئا الى النهاية الحرة للسوط . وينمـو السوط نتيجة للتركيب الذاتي Self assembly للفلاجلين والذى يحتـوى

على كافة المعلومات اللازمة لبناء السوط. وعملية نمو السوط هي عملية مستمرة ، فيظل السوط في النمو حتى يصل الى أقصى طول له . وحتى عندما ينكسر جزء من طرف السوط فان عملية التركيب الذاتي تقوم بتعويضها .

وعندما تنقسم الخلية فان الخليتين الأختين daughter cells يجب أن يحصلا على نسخة من السوط. ففي الخلايا طرفية الأسواط أو وحيدة السوط تحصل الخليتين الأختين على نسخة من الأسواط وفقا للرسم التوضيحي في شكل (٩ـ٢٣) أما في الخلايا محيطية الأسواط فان الخليتين الأختين تحصلا على نسخ من الأسواط مع بناء أسواط فيما بينها لملأ الفراغات التي تنتج عن نمو الخليتين الأختين .



شكل ٩ـ٢٣ : رسم توضيحي لتوزيع الأسواط على الخلايا

أ ـ وحيدة السوط أو طرفية السوط

ب ـ محيطية الأسواط.

وتتحرك البكتيريا وحيدة السوط بعمل تموجات سريعة بواسطة السوط. أما البكتيريا طرفية الأسواط فتلتف مجموعة الأسواط حول نفسها على هيئة لولب يتحرك حول نفسه ونحو اليمين واليسار فتندفع الخلية الى الأمام. وفى البكتيريا محيطية الأسواط تلتف مجموعة الأسواط الطرفية فى أحد طرفى الخلية حول نفسها مكونة لولبا يتحرك حول نفسه فتتحرك الخلية للأمام كما هو موضح فى الشكل (٩-٢٤).

الاستجابة الحركية للبكتيريا المتحركة بالأسواط نحو الكيميائيات

Chemotactic behavior of motile bacteria

ان البكتيريا ذات الأسواط تكون عادة فى حركة عشوائية نشطة مستمرة. ولكن اذا وجدت هذه البكتيريا فى مجال من تركيزات مختلفة من مادة كيميائية Chemical gradient فان الخلايا تهاجر وتتراكم فى الجزء الذى يحتوى على أنسب تركيز لمعيشتها من المادة الكيميائية (وفى معظم الأحوال تكون هذه المواد الكيميائية عناصر مغذية). وتنقسم المواد الكيميائية التى تؤثر على السلوك الحركى للبكتيريا الى قسمين:

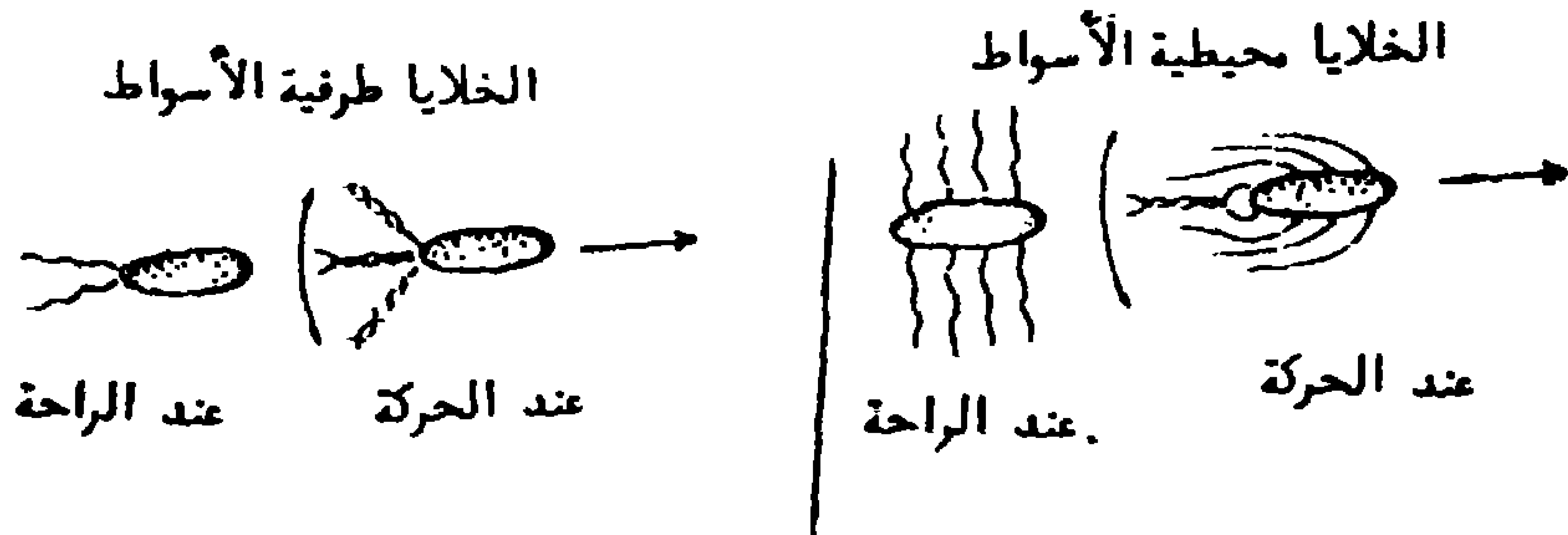
المواد الكيميائية الجذابة Attractants وهى عادة عناصر مغذية (Nutrients)

وتميل الخلايا البكتيرية المتحركة الى التراكم فى الأجزاء ذات التركيز العالى (دون الوصول الى تركيزات قاتلة) منها.

المواد الكيميائية الطاردة Repellants وهى عادة عناصر سامة.

وتميل خلايا البكتيريا المتحركة الى التراكم فى الأجزاء ذات التركيز المنخفض منها.

وتعرف حركة البكتيريا تجاه التركيزات العالية أو المنخفضة (وبمعنى آخر حركة البكتيريا تجاه أو بعيدا عن المواد الكيميائية المختلفة) باسم الاستجابة الحركية للبكتيريا نحو الكيميائيات Chemotactic response أو

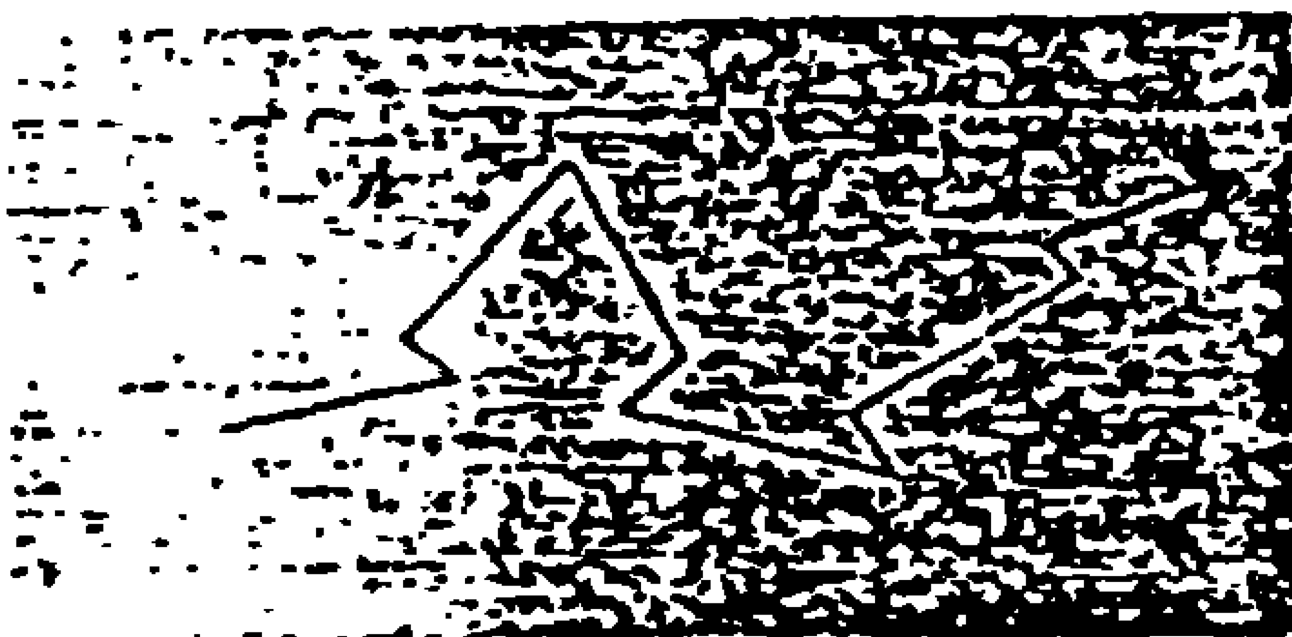


شكل ٩ـ٢٤ : طريقة حركة الأسواط فى البكتيريا طرفية الأسواط ومحيطية الأسواط

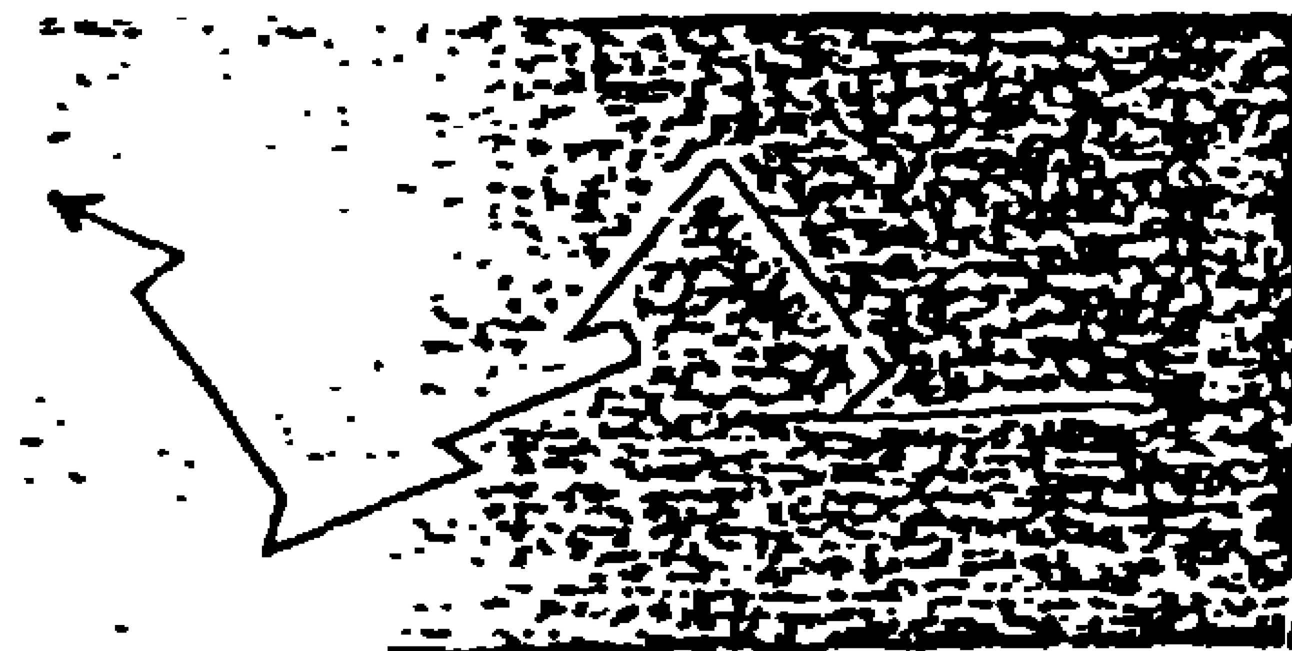


شكل ٩ـ٢٥ : رسم تخطيطى لحركة بكتيريا القولون كما سجلت بمجهر التتبع. ويلاحظ أن الرسومات ذات محوريين بينما الحركة تحدث على ثلاث محاور :

ب ـ مادة جاذبة



جـ ـ مادة طاردة



أ ـ حركة عشوائية للخلية فى مجال ذو تركيب كيميائى متجانس حيث يتبع كل تغيير فى الاتجاه سبحة لفترة قصيرة.

ب ـ حركة موجهة فى اتجاة مادة جذابة ، فالسباحة مازالت عشوائية الاتجاه، ولكن عندما يبدأ الاتجاه فى ارتفاع التركيز تكون السباحة لمسافات أطول ويقل تغيير الاتجاه..

جـ ـ حركة موجهة بعيدا عن مادة طاردة..

الحركة الموجهة بالكيميائيات للبكتيريا Chemotaxis شكل (٩ـ٢٥) ٠

وتختلف المواد الكيميائية التى تؤثر على حركة البكتيريا حركة موجبة (المواد الجذابة Attractants) أو حركة سالبة (المواد الطاردة Repellant) باختلاف البكتيريا ٠

ولا يمكن ملاحظة السلوك الحركى للبكتيريا بواسطة المجهر الضوئى العادى نظرا للصعوبة البالغة فى تتبع الخلية ، فالخلية سريعة الحركة وتخرج بسرعة عن مجال رؤية المجهر ، ولقد ابتكر لذلك خصيصا نوع آخر من المجاهر يسمى مجهر التتبع Tracking microscope ٠ ويحتوى هذا المجهر على غرفة صغيرة خاصة ذات أبعاد ثلاثة محددة ، ويمكن تسجيل حركة الخلية داخل هذه الغرفة للحصول على خط سير الخلية (شكل ٩ـ٢٥) ٠ وعند فحص حركة سير عدد كبير من الخلايا فانه يمكن تلخيص الاستجابة الحركية للبكتيريا تجاه الكيميائيات على أنه جرى وتغيير اتجاه Run and Twiddle.

فعندما تجرى الخلية فانها تسبح فى استقامة بانحناءات خفيفة فى كلا الاتجاهين ثم تتوقف وتجرى فى اتجاه آخر ، والانحرافات عشوائية طالما لم يوجد تغير فى تركيز الكيميائيات المختلفة فى الوسط ٠ أما اذا وجد تغير فى تركيز مادة كيميائية معينة سواء جذابة أو طاردة فان الاتجاهات العشوائية تصبح متحيزة Biased للاتجاه الأعلى فى التركيز أو الأقل فى التركيز ، وذلك بأن تقل عدد الانحرافات ويصبح الجرى فى اتجاه واحد لمسافات أطول ٠

وتشير التجارب أن الخلايا لا تميز الفرق فى التركيز عن طريق مقارنة التركيز عند طرفى الخلية فى نفس الوقت nstantaneous spatial comparison كما قد يبدو للوهلة الأولى ٠ ولكن ثبت أن الخلية (على الأقل فى بكتيريا القولون E. coli) لديها ذاكرة قصيرة للتركيزات الصاعدة أو النازلة تمكن الخلية من مقارنة التركيز الحالى والسابق على فترات قصيرة ٠ ولجهاز الذاكرة فى الخلية القدرة على تذكر التركيز الماضى لعدة ثوان ٠ فاذا فرضنا أن خلية بكتيرية تسبح بسرعة ٣٠ ميكروميتر / الثانية

(جدول ٩ـ٤) ولها ذاكرة تمتد لدقيقة واحدة فان ذلك يعنى أنهـــا تستطيع مقارنة تركيزين على بعد ٨ر١ مليمتر (أى حوالى ألف مرة طـــول جسم الخلية) وبذلك فان الخلية لا تحتاج لدرجة عالية من دقة القيـــاس مثلما لو احتاجت لو كانت مقارنة التركيز عند طرفى الخلية ٠

جدول ٩ـ٤ : سرعة عدد من البكتيريا المعروفة مقارنة بطول الخلية نفسها

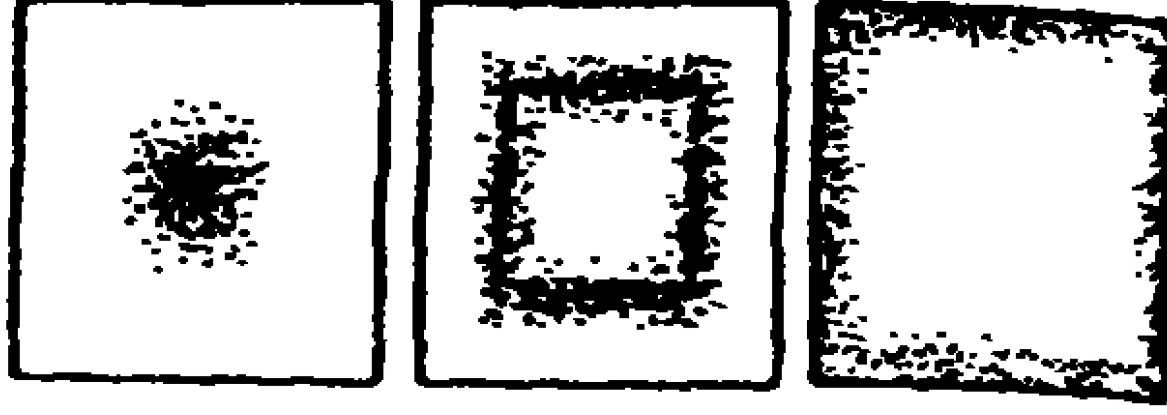
اسم البكتيريا	نوع الأسواط	طول الخلية بالميكرومتر	سرعة الخلية ميكرومتر / ثانيـــة	سرعة الخلية طول الخلية / ثانيـــة
سودوموناس أرجينوسا Pseudomonas aeruginosa	وحيد طرفى	٥ر١	٨ر٥٥	٣٧
كرومتيم أوكينياى Chromatium okenii	طرفية الأسواط	١٠	٩ر٤٥	٥
ثيوسبيرللم جيننز Thiospirillum jenense	طرفية الأسواط	٣٥	٥ر٨٦	٢
ايشريشيا كولاى Escherchia coli	محيطية الأسواط	٢	٥ر١٦	٨
باسيلس ليشنفورمس Bacillus licheniformis	محيطية الأسواط	٣	٤ر٢١	٧
سارسينا يوريا Sarcina ureae	محيطية الأسواط	٤	١ر٢٨	٧

وقد اتضح أن البكتيريا تحتوى على سطحها الخارجى مراكز لاحساس الكيميائيات Chemoreceptors تستطيع الاحساس بوجود مواد كيميائية معينة ومعرفة تركيزها • ومما هو جدير بالذكر أن هذه المراكز المسئولة عن الاستجابة الحركية للبكتيريا هى نفسها البروتينات المسئولة عن نقل الكيميائيات داخل الخلية • وبالرغم من أن البروتينات المسئولة عن نقل الكيميائيات Binding proteins متخصصة جدا فى نقل الكيميائيات الى داخل الخلية فانها ليست على نفس الدرجة من التخصص فى الاحساس بالمواد الكيميائية كمراكز احساس للكيميائيات Chemoreceptors. وعلى سبيل المثال نجد مركز احساس الجلكتوز Galactose chemoreceptor يستطيع الاحساس بالجلوكوز Glucose والفيوكوز Fucose علاوة على الجلكتوز • بينما يستطيع مركز احساس المانوز Mannose الاحساس بالجلوكوز علاوة على المانوز

الاستجابة الحركية للبكتيريا المتحركة بالأسواط نحو أكسجين الهواء

وهو نوع من أنواع حركة البكتيريا الموجبة بالكيميائيات Chemotaxis اذا اعتبرنا الأكسجين مادة كيميائية • وقد سميت الحركة الموجبة بالأكسجين الهوائى Aerotaxis أو Aerotatic response . وفى هذه الحالة قد يكون الأكسجين الهوائى مادة جذابة Attractant (وذلك بالنسبة للبكتيريا الهوائية الاجبارية) أو مادة طاردة (وذلك بالنسبة للبكتيريا اللاهوائية الاجبارية) • أما البكتيريا المحبة للتركيزات المنخفضة من الأكسجين Microaerophilic فانها تتخذ مركزا وسطا بين الأماكن التى تحتوى على تركيز عالى من الأكسجين والأماكن التى لا تحتوى على أكسجين (شكل ٩ـ٢٦) •

شكل ٩ ـ ٢٦ : الاستجابة الحركية للبكتيريا المتحركة نحو أكسجين الهواء ، معلـــق من بكتيريات مختلفة وضعت على شريحــة زجاجية تحت غطاء الشريحـة ...

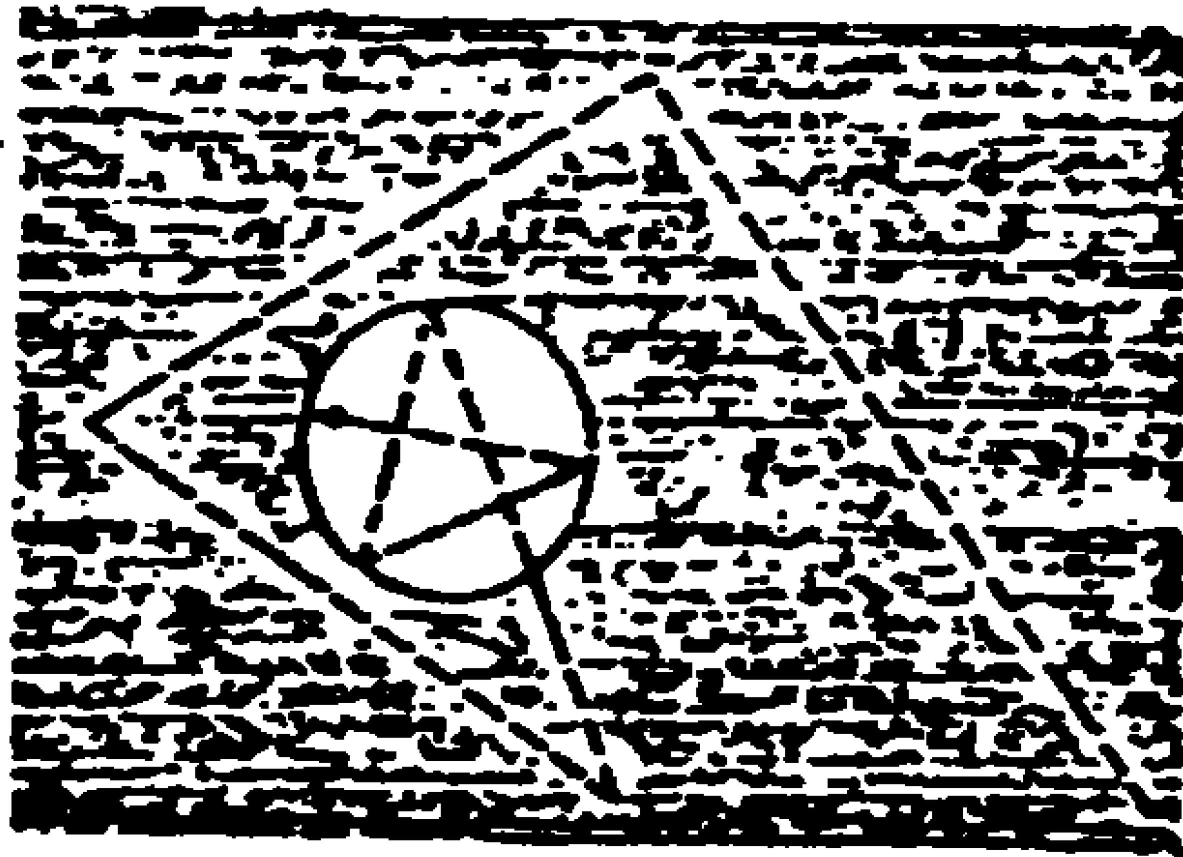


أ ـ بكتيريا هوائية اجبارية تتراكم بالقرب من حواف غطاء الشريحة حيث يكون تركيــز الأكسجين أعلى ما يمكن .
ب ـ بكتيريا هوائية محبة للتركيزات المنخفضة من الأكسجين تتراكم على مسافة من حافــة غطاء الشريحـة .
جـ ـ البكتيريا اللاهوائية الاجبارية تتراكـم عند مركز غطاء الشريحة حيث تكون الظـروف لا هوائية .

الاستجابة الحركية للبكتيريا المتحركة (البنفسجية) الممثلـة للضوء نحو الاضاءة

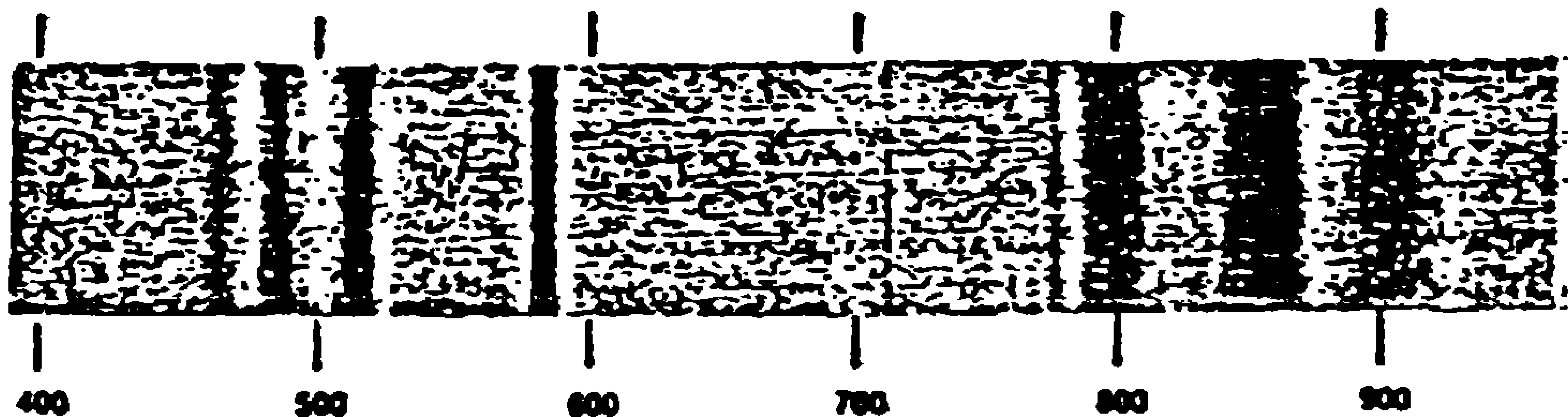
ان البكتيرياالبنفسجية الممثلة للضوء تستجيب حركيا للاضـــاءة (ايجابا وسلبا) على حسب شدة الاضاءة والطول الموجي ، وتسمى هذه الظاهرة " السلوك الحركي للبكتيريا الممثلة للضوء نحو الاضاءة Phototaxis " أو Phototactic response ". ويمكن الاستدلال على هذا السلوك الحركي بوضع معلق بكتيري(البكتيريا البنفسجية) في غرفة مضيئة اضاءة ضعيفـــة ثم تسليط بقعة محدودة من هذا المعلق لضوء أكثر شدة .

وفي خلال فترة من ١٠ ـ ٣٠ دقيقة نجد أن معظم البكتيريا تتركـز في المنطقة المضيئة (شكل ٩ ـ ٢٧) والتي تعمل كمصيدة ضوئية للبكتيريـا الممثلة للضوء ويحدث ذلك نتيجة دخول البكتيريا في منطقة الضوء القـوى بالحركة العشوائية ، وتمتنع عن الخروج عنها بواسطة تغيير فجائي في اتجاه الحركة العشوائية كلما قابلت حدود المنطقة المضيئة .



شكل ٩ ـ ٢٧ : رسم تخطيطي لتوضيح عمل المصيدة الضوئية للبكتيريا البنفسجية المثلة للضوء المتحركة عند وجودها لدى مجال مظلم مع وجود بقعة ضوئية واحدة • الخط المتقطع يوضح اتجاه سير هذه البكتيريا •

كما لوحظ أنه لو عرض معلق بكتيرى (من البكتيريا البنفسجية الممثلة للضوء) فى غرفة مظلمة لمجال من الاشعاعات الضوئية ذات الطول الموجى المختلف (ويمكن الحصول عليها بتحليل الضوء الأبيض بواسطة منشور ثلاثى) ، فنجد أن البكتيريا تتركز فى خطوط على طول الوعاء الذى توجد فيه • والأماكن التى تتركز فيها البكتيريا هى أماكن الأشعة ذات الطول الموجى التى يمكن للبكتيريا استعمالها لتمثيل الضوء (شكل ٩ ـ ٢٨) •



شكل ٩ ـ ٢٨ : النظام الذى تبدو عليه البكتيريا البنفسجية الممثلة للضوء المتحركة الموجودة وسط سائل عند تعريضها لأشعة ضوئية ذات أطوال موجية مختلفة •• يلاحظ تراكم الخلايا بكثرة عند الأشعة الضوئية ذات الطول الموجى الذى يمكن استخدامه فى عمليات التمثيل الضوئى لهذه البكتيريا • والخلايا المركزة تركيزها ضعيف نسبيا حول طول موجى ٥٠٠ نانوميتر تعزى الى امتصاص الكاروتينات عند هذا الطول الموجى ، أما التركيزات العالية عند ٥٩٠ ، ٨٠٠ ، ٨٥٠ ، ٩٠٠ نانوميتر فهى تعزى لأن الكلوروفيل البكتيرى يمتص هذه الموجات ويستغلها فى التمثيل الضوئى •

ب ـ الزوائد العادية Fimbriae والزوائد الجنسية Pili

الزوائد العادية Fimbriae أحيانا يطلق عليها اسم Ordinary pili ولكننا هنا نستعمل كلمة Fimbriae تمييزا لها عن الزوائد الجنسية Sex pili . وكلا النوعين من الزوائد عبارة عن تركيبات تشبه الى حد ما الأسواط، ولكنها مستقيمة لا تلعب أى دور فى الحركة. والزوائد العادية Fimbriae أقصر كثيرا من الأسواط وأعدادها كبيرة على سطح الخلية فى الأنواع التى تحتوى عليها (شكل ٨ ـ ١٠) ولا تحتوى كل البكتيريا على Fimbriae وتتوقف القدرة على انتاجها على العوامل الوراثية الموجودة فى أنواع معينة من البكتيريا. ووظيفة هذه الزوائد العادية Fimbriae ليست معروفة بالتأكيد، ولكن هناك بعض الدلائل على أنها تمكن البكتيريا من الالتصاق بالأسطح الخاملة، كما أنها تساعد فى تكوين طبقة الريم التى تنتج من التصاق الخلايا ببعضها على سطح السوائل Pellicles . أما الزوائد الجنسية Pili (ومفردها Pilus) فهى ذات تركيب يشبه الزوائد العادية Fimbriae ولكنها عادة أطول، وتحتوى الخلية على عدد قليل منها (١ ـ ٥ زوائد جنسية) . ويمكن رؤيتها بالمجهر الضوئى أحيانا، وهى توجد فى الخلايا البكتيرية المذكرة، كما أنها موقع استقبال (ادمصاص) فيروسات معينة متخصصة تصيب خلايا البكتيريا المذكرة فقط تسمى " الفيروسات المتخصصة لذكور البكتيريا "Male specific viruses . لذلك فيمكن صبغ هذه الزوائد الجنسية بواسطة هذه الفيروسات المتخصصة مما يساعد على رؤية الزوائد الجنسية بسهولة، ولا تدمص هذه الفيروسات على أى زوائد أخرى فى الخلية . وتستخدم هذه الزوائد فى عمليات التزاوج بين البكتيريا المذكرة والمؤنثة وتنتقل خلالها المواد الوراثية من الخلية المذكرة الى الخلية المؤنثة، وتتركب هذه الزوائد من وحدات بروتينية Protein subunits خاصة تسمى Pillin مرتبة فى حلقات حلزونية الشكل مكونة تجويفا داخليا (شكل ٩ ـ ٢٠) تمر فيه المواد الوراثية أثناء عملية التزاوج Conjugation.

٤- الجراثيم (الأبواغ) الداخلية البكتيرية

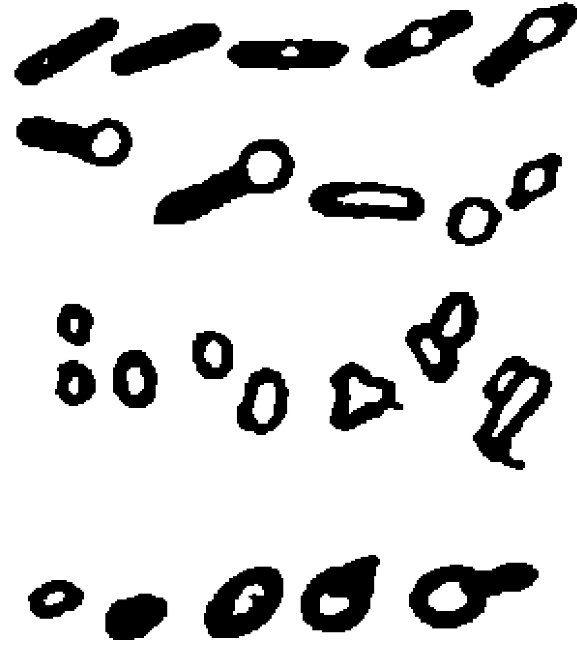
Bacterial Endospores

لقد كان اكتشاف الجراثيم البكتيرية حدثا هاما جدا في علم البكتيريا فعندما عرفت المقاومة الشديدة لهذه الجراثيم للحرارة طورت كثيرا من الطرق المستخدمة ليس فقط في علم الأحياء الدقيقة كتعقيم البيئات والأدوات المعملية وغيرها ، بل أيضا طورت طرق تعقيم أدوات الجراحة وطورت أيضا طرق معاملة الأغذية بالحرارة كالتعقيم التجارى ٠

وتسمى جراثيم البكتيريا " جراثيم داخلية Endospore " لأنها تتكون داخل الخلية ، ورغم أن العديد من الكائنات تكون جراثيما ، الا أن جراثيم البكتيريا هي الأشد مقاومة للحرارة ، فمن العادى أن نجد جراثيما تقاوم درجة حرارة غليان الماء لفترات زمنية ليست بالقصيرة ٠ وقد اكتشف حديثا نوع من جراثيم البكتيريا تستطيع مقاومة درجة حرارة التعقيم في المعقم Autoclave على ١٢١,٦°م لمدة ١٠ دقائق ، وبذلك تكون هذه الكائنات هي أكثر صور الحياة المعروفة مقاومة للحرارة العالية ، ولا تقتصر مقاومة هذه الجراثيم في مقاومة الظروف غير المناسبة على مقاومة الحرارة فقط ، فان الجراثيم أيضا تتحمل الجفاف الشديد والأحماض والاشعاع وكثيرا من المواد الكيمائية المطهرة التي تستخدم لقتل البكتيريا الخضرية Vegetative cells التي تنتج الجراثيم ٠

ويمكن رؤية الجراثيم البكتيرية تحت المجهر الضوئى كأجسام شديدة اللمعان Highly refractile (شكل ٩-٢٩) ٠ والجراثيم مقاومة للصبغ بالطرق العادية وتحتاج لطرق خاصة لصبغها ٠ لذلك فالخلايا المصبوغة بصبغة بسيطة مثل أزرق الميثلين والمحتوية على جراثيم تظهر بها الجراثيم دون صبغ كأجسام لامعة ٠ ويعتبر تركيب الجراثيم البكتيرية أكثر تعقيدا عن تركيب الخلايا الخضرية الناتجة منها ، وخاصة في الأغلفة الخارجية ٠ فالغلاف الخارجي للجرثومة يسمى الـ Exosporium وهو غلاف رقيق رهيف يقع داخله غطاء الجرثومة Spore coat وهو عبارة عن طبقة أو عدة طبقات من مادة تشبه الجدار الخلوى ٠ ويلى طبقة غطاء الجرثومة طبقة الـ

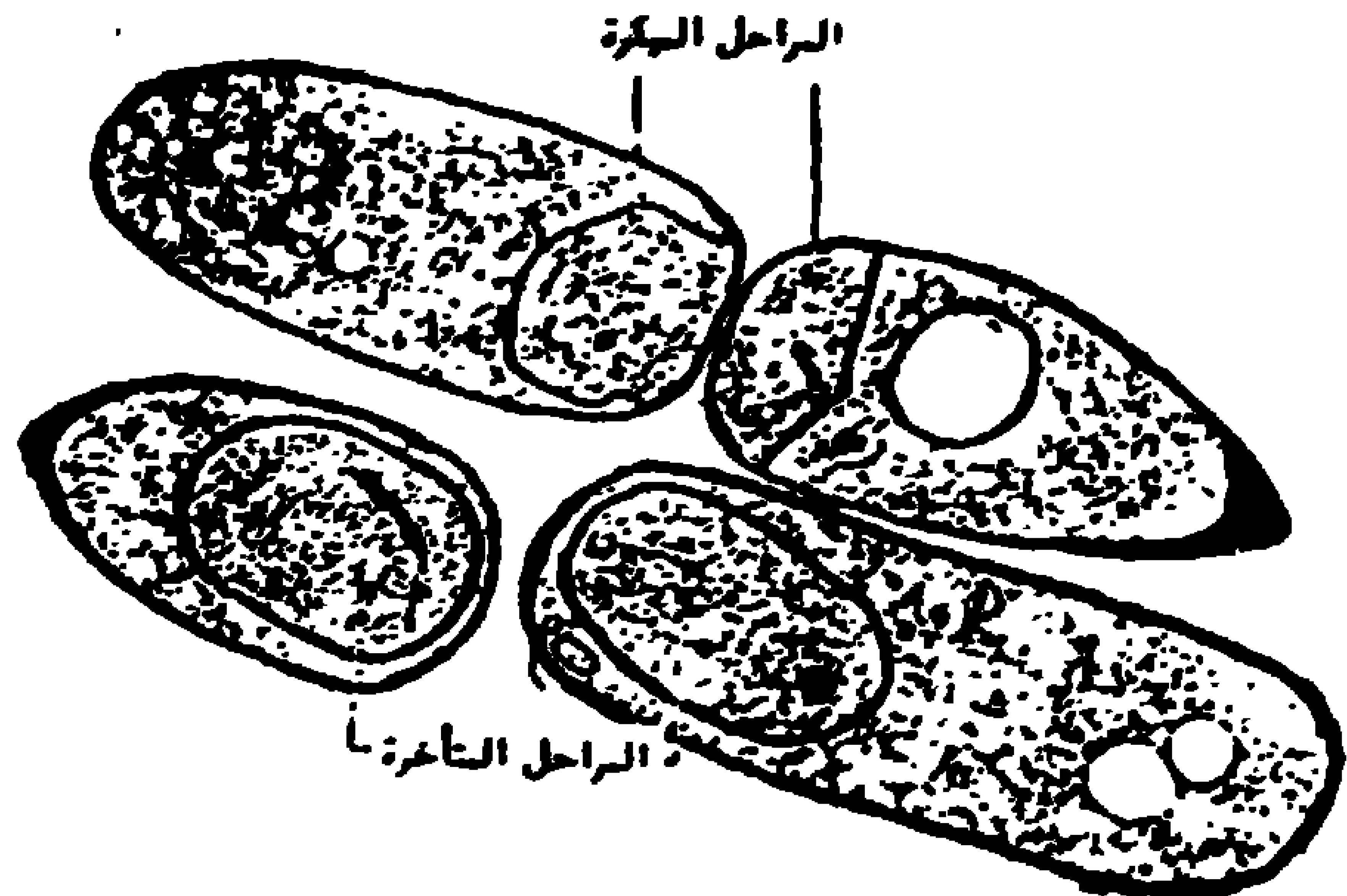
Cortex ثم يلى ذلك طبقة اللب Core وهى تحتوى بداخلها علـــــى الجدار الخلوى Cell wall or core wall فالغشاء الخلوى والمنطقـــة النووية وغيرها من مكونات الخلية ، وعلى ذلك فالجرثومة تختلف عن الخلية فى الطبقات خارج الجدار الخلوى Core wall or Cell wall (شكل ٩ــ٣٠)



شكل ٩ــ٢٩ : نماذج مختلفة للجراثيم الداخلية للبكتيريا ، وفيها تبدو الجراثيم كأجسام لامعـــة تحت المجهر .

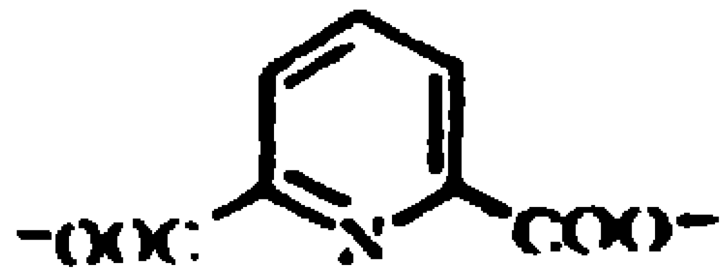
شكل ٩ــ٣٠ : صورة بالمجهر الالكترونى للجرثومة البكتيرية الداخلية :
أ ــ خطوات تكوين الجرثومة داخـــــل الخلية الخضرية لبكتيريا باسيلس ستليس
Bacillus subtilis
ب ــ جرثومة كاملة لنفس البكتيريا ...





وقد وجدت مادة كيميائية تسمى حمض داى بيكولينك Dipicolinic acid ويرمز لها بالرمز DPA فى كل الجراثيم ، وهذه المادة ليست موجودة فى الخلايا الخضرية . وربما توجد هذه المادة (DPA) فى طبقة اللب Core . كما أن الجراثيم تحتوى أيضا على نسبة عالية من أيونات الكالسيوم الذى يوجد معظمه أيضا فى طبقة اللب Core وربما متحدا مع مادة DPA المذكورة . وهناك من الأسباب ما يجعلنا نعتقد أن الكالسيوم ومادة DPA هما المسئولان عن مقاومة الجراثيم الشديدة للحرارة (شكل ٩ــ٣١) .

شكل ٩ــ٣١ : شكل توضيحى للتركيب البنائى لحمض داى بيكولينك DPA



ويمكن مشاهدة التغيرات التى تحدث فى الخلية عند تحولها الى جرثومة بواسطة المجهر الالكترونى ، وذلك بتعريض الخلية لظروف غير ملائمة مثل نقص الغذاء (أو التجويع) فبدلا من الانقسام تتجه الخلية الى عدد من التفاعلات المعقدة التى تنتهى بتكوين الجرثومة (شكل ٩ــ٣٢) .

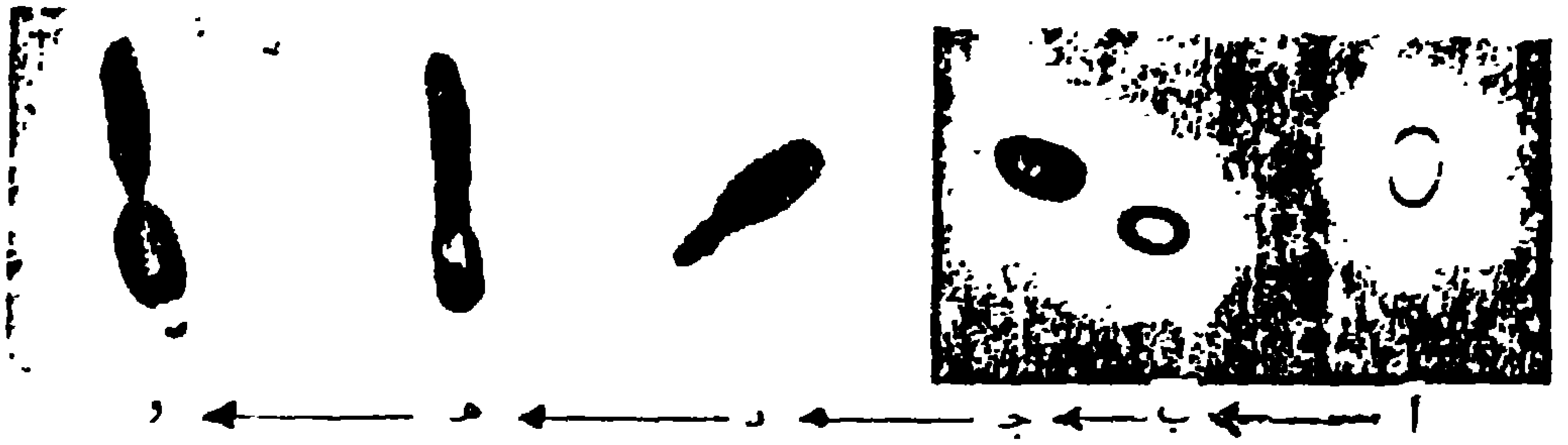
هذا . . . ويختلف موقع الجرثومة من الخلية المكونة لها (أو الكيس الجرثومى) Sporangium فى الأصناف المختلفة من البكتيريا كما سبق ذكره ، فقد تكون الجرثومة طرفية أو وسطية أو تحت طرفية ، وقد تنتفخ الجرثومة Swollen spore أو تظل فى نفس الجسم الطبيعى (شكل ٨ــ٤جـ) وقد تظل الجرثومة ساكنة أو كامنة Dormant لعدد من السنين اذا لم تتوفر الظروف المناسبة ، ولكن عند توفر الظروف المناسبة للنمو تتحول الجرثومة الى الحالة الخضرية (شكل ٩ــ٣٣) وقد يتم هذا التحول فى وقت قصير لا يتعدى دقائق معدودة ، وقد يستغرق هذا التحول وقتا طويلا ، وتسمى هذه العملية (التحول من الصورة الجرثومية الى الصورة الخضرية) باسم انبات الجراثيم Spore germination .

الخلية الخضرية قبل التجرثم
(مرحلة الصفر)
ميسوسوم
جدار الخلية
غشاء الخلية
المواد النووية
تصبح المواد النووية أكثر كثافة
المرحلة ١
المرحلة ٢
يحدث اختناق في الغشاء الخلوى
نفصل الجرثومة الأولية
تكوين الجرثومة الأولية
المرحلة ٣
جرثومة أولية
Forespore
تتكون الأغشية الجرثومية
غشاء جرثومى خارجي
غشاء جرثومى داخلي
المرحلة ٤
يظهر الكورتكس
كورتكس أولى
Exosporium
المرحلة ٥
يتكون الغطاء الخارجي للجرثومة
المرحلة ٦
يكتمل تكون الجرثومة
طبقات كورتكس
المرحلة ٧
تتحرر الجرثومة من أغلفة الخلية الام
بعد اكتمال الطبقات الداخلية والخارجية
للكورتكس
Exosporium

شكل ٩ـ٣٢ : رسم توضيحى لخطوات تكوين الجرثومة ٠

ويتم انبات الجراثيم فى خطوتين : وقف الكمون (السكون) ثم بدء النمو Out growth والخطوة الأولى (وقف الكمون) تتم نتيجة أى ظروف بيئية منشطة مثل التعرض لحرارة مرتفعة ٠ فتعرض الجراثيم لدقائق قليلة على درجة ٦٠ ــ ٧٠°م كفيل بوقف مرحلة الكمون ، ويمكن الاستدلال على ذلك بفقد اللمعان الخاص بالجرثومة ٠

وتقبل الصبغ وتناقص مقاومة الحرارة ، وتنتفخ الجرثومة وينكسر غطاؤها ثم تبدأ الخلية الخضرية فى الاندفاع الى خارج غطاء الجرثومة coat



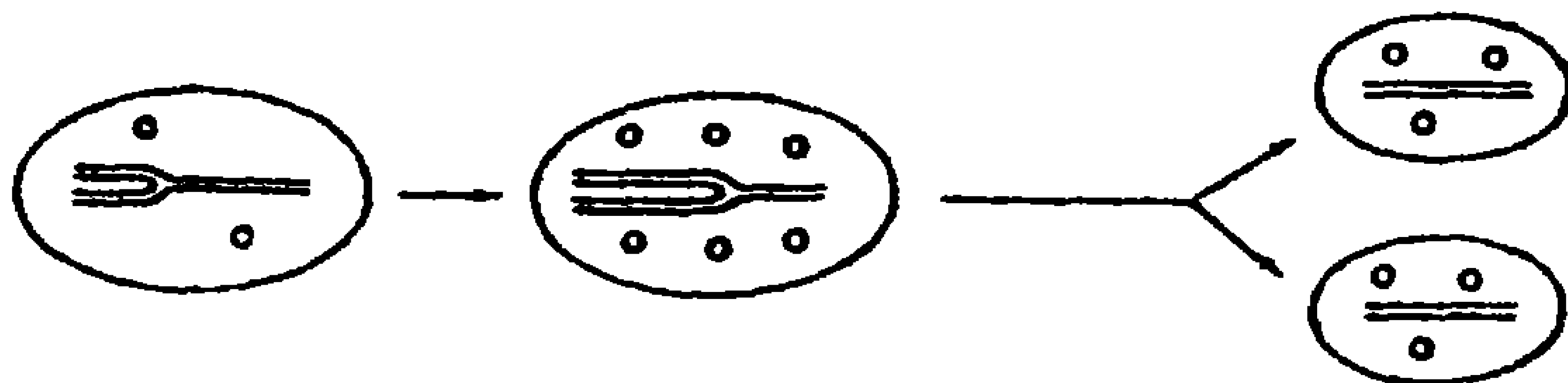
شكل ٩ـ٣٣ : صورة مجهرية توضح خطوات انبات الجرثومة ٠٠ اختفاء اللمعان ثم الانبات وتكوين خلايا خضرية ٠

وتبدأ النمو Out growth ثم الانقسام ٠٠ أما غطاء Spore coat الجرثومة فعادة ما يتحلل بالانزيمات الموجودة ويختفى ٠

٥ ـ البلازميدات Plasmids

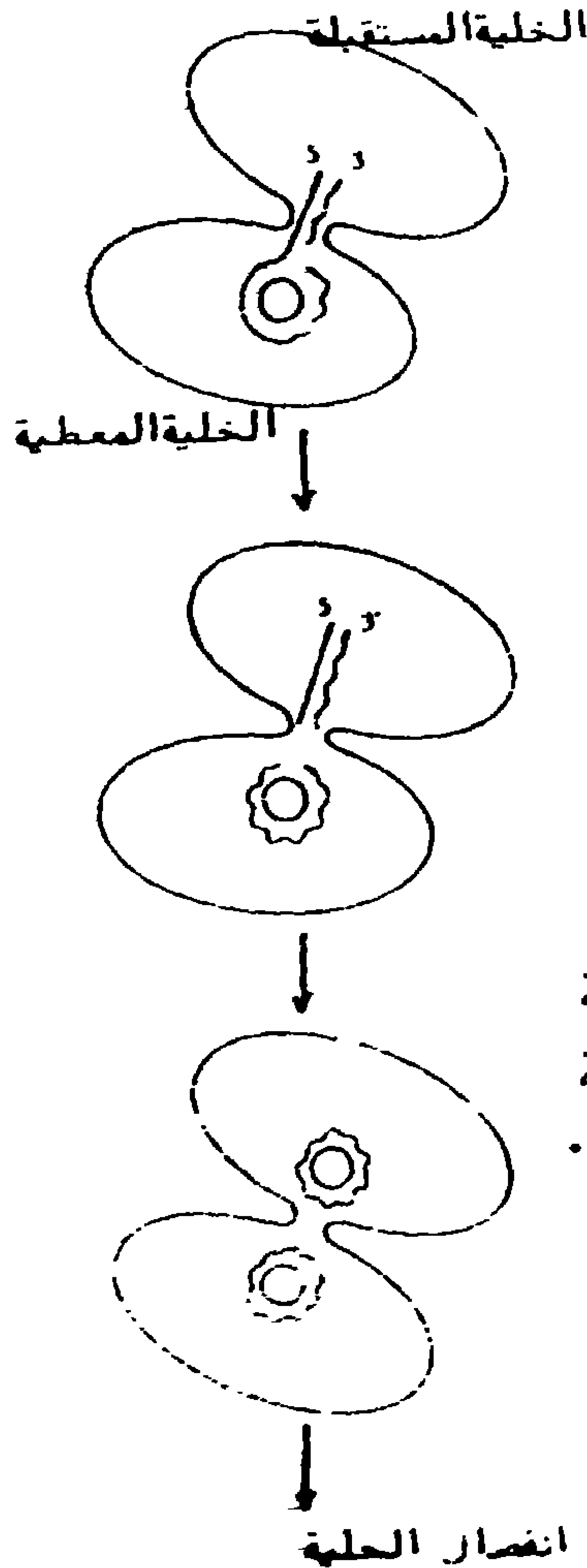
يمكن تعريف البلازميدات على أنها تركيبات وراثية غير كروموسومية عبارة عن جزيئات صغيرة من الحمض النووى د ن أ DNA تتضاعف أو تنسخ مستقلة عن الكروموسوم (شكل ٩ـ٣٤) ٠ وعلاوة على ذلك فان من أهم صفات البلازميدات ما يلى :

(١) البلازميدات عموما تقل عن $\frac{١}{٢٠٠}$ من حجم كروموسوم الخلية ٠ ويتراوح وزنها الجزيئى بين ٣×١٠^٦ فى البلازميدات الصغيرة الى ١×١٠^٨ فى البلازميدات الكبيرة ٠



شكل ٩ـ٣٤ : رسم توضيحى لتضاعف البلازميدات مستقلة عن الكروموسوم ٠

(٢) البلازميدات الكبيرة مثل العامل الجنسى Sex factor وبعض عوامل المقاومة Resistance factor والتى تسمى R factor تحتوى على مورثات (جينات) خاصة تمكنها من الانتقال من خليتها (الخلية المعطية Donor cell) الى خلية أخرى (الخلية المستقبلة Recipient cell) ولذلك تسمى هذه البلازميدات بلازميدات الاتصال Conjugative Plasmids كما تسمى أيضا البلازميدات المعدية Infectious Plasmids نظرا لأن الصفات الوراثية التى تحملها هذه البلازميدات تظهر فى الخلايا المستقبلة (شكل ٩ـ٣٥) مثلها فى ذلك مثل الأمراض المعدية Infectious diseases .



شكل ٩ـ٣٥ : تضاعف البلازميد وفقا لنموذج الدائرة المتدحرجة Rolling circle model
فى المرحلة الأولية تفتح احدى السلسلتين فى الخلية المعطية وتبدأ فى الانتقال الى الخلية المستقبلة وتتضاعف أثناء انتقالها الى الخلية المعطية لتكون جزىء مزدوج السلسلة ويتحول الى حلقة ، أما السلسلة الثانية والتى تظل حلقية فانها تتضاعف مكونة جزىء بلازميد كامل حلقى ...

وفى المرحلة الأخيرة تكون كلا من الخلية المستقبلة والمعطية محتويتين على نسخة كاملة من البلازميد ثم تنفصل الخليتين المتزاوجتين ..

وفيما يلي نورد شرحا مختصرا لهذين النوعين من البلازميدات:

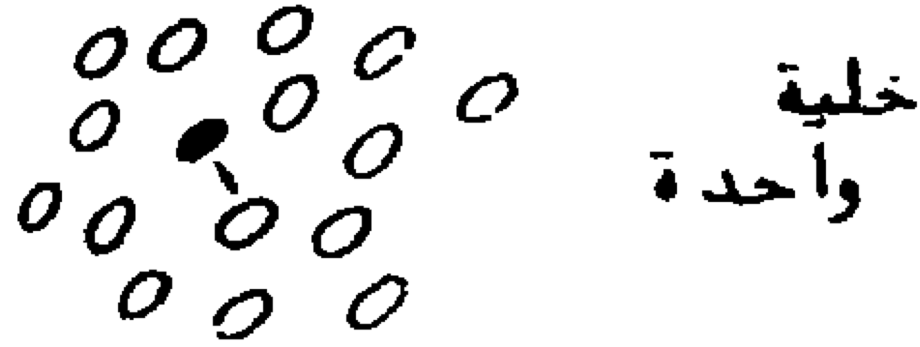
أ ـ العامل الجنسي Sex factor ويعرف أحيانا باسم الايبيسوم Episome (وقد بدأت كلمة الايبيسوم تختفي في السنوات الأخيرة) كما يسمى أيضا بعامل الخصوبة F. factor (وترمز F الى Fertility ومعناها الخصوبة) وأحيانا يسمى F1 factor وهو يوجد في الخلايا المذكرة Male cells فقط والتي يرمز لها بالرمز F^+ ... ولا يوجد في الخلايا المؤنثة Female cells والتي يرمز لها بالرمز F^-

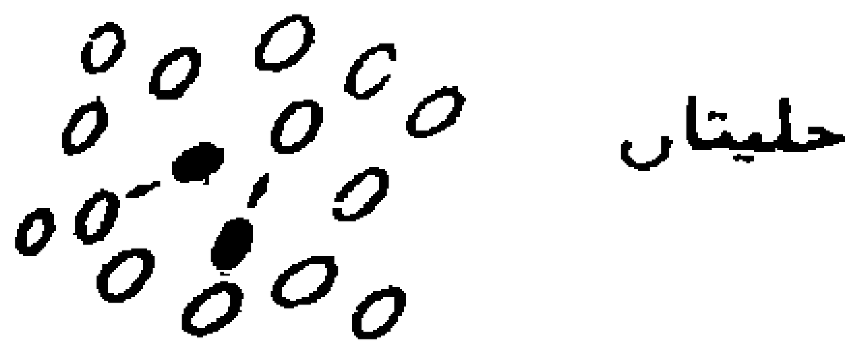
وله وزن جزيئي مقداره ٥×١٠^٧ الى ٧×١٠^٧ ويحتوي على حوالي ١٠٠ مورث (جين) ، وبعض هذه المورثات مسئول عن بناء الزوائد الجنسية Sex Pili والبعض الآخر مسئول عن نقل نسخة من هذا العامل الجنسي من الخلية المذكورة F^+ cell (وتسمى في هذه الحالة الخلية المعطية Donor cells) الى الخلية المؤنثة F^- cell (وتسمى في هذه الحالة الخلية المستقبلة Receipient cell) خلال عملية التزاوج Conjugation.

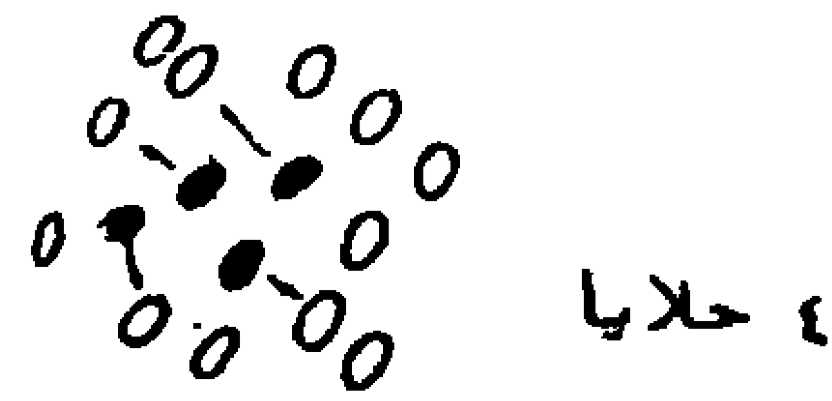
وعند انتقال نسخة من العامل الجنسي Sex factor الى الخلايا المستقبلة فان تلك الخلايا المستقبلة تكتسب صفة القدرة على اعطاء بلازميدات (أي تصبح خلايا مذكرة أيضا) . لذلك تسمى هذه البلازميدات بالبلازميدات المعدية Infectious Plasmids أو بلازميدات الاتصال Conjugative Plasmids.

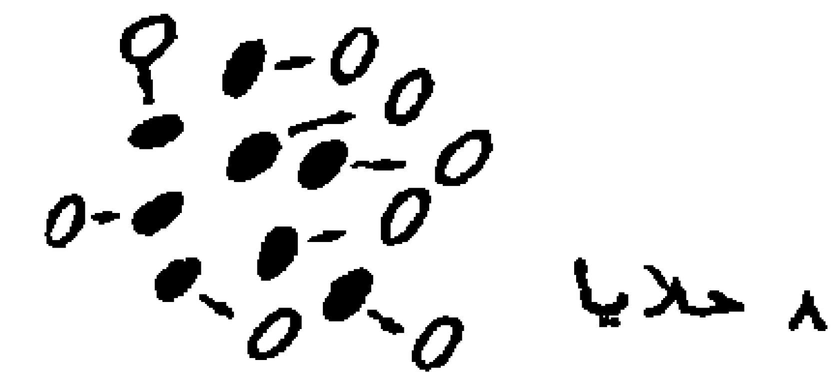
ب ـ عوامل المقاومة Resistance factors ويرمز لها بالاسم R Factors وهي ذات وزن جزيئي مماثل للوزن الجزيئي للعامل الجنسي السابق الذكر . كما تحمل مورثات (جينات) خاصة مسئولة عن انتقال هذه البلازميدات من الخلايا المعطية Donors الى الخلايا المستقبلة Recipient . وهذا النوع من البلازميدات على درجة كبيرة من الأهمية ... فهي تحمل جينات وراثية (مورثات) مسئولة عن انتاج انزيمات محللة للمضادات الحيوية . وبذلك فان البكتيريا التي تحمل هذه البلازميدات لا تتأثر بمضادات حيوية فعالة ضد البكتيريا مثل الاستربتومايسين Streptomycin والكلورامفينيكول Chloramphenicol والتتراسيكلين Tetracycline وغيرها مثل السلفانيلاميد

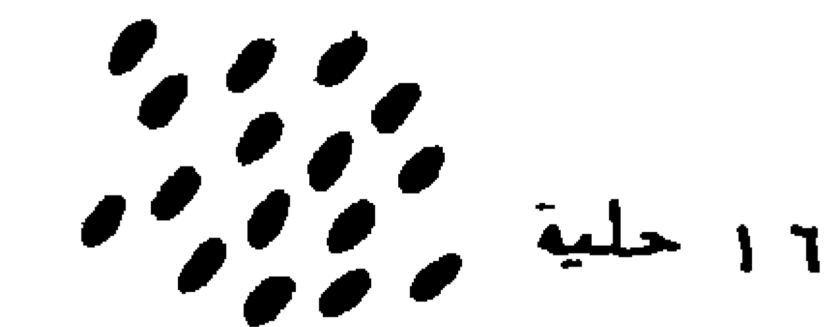
Sulfanilamide . وعند انتقال هذه البلازميدات الى خلايا مستقبلة حساسة لأى من هذه المضادات الحيوية ، فان الخلايا المستقبلة أيضا تكتسب صفة المقاومة للمضادات الحيوية أو تنتقل اليها عدوى مقاومة المضادات الحيوية ، ولذلك تسمى هذه البلازميدات أيضا بالبلازميدات المعدية Infectious Plasmids مثل ما حدث فى اليابان عام ١٩٥٥م عندما عزلت أول سلالة من ميكروب الاسهال Shigella dysentriae المقاومة للمضادات المذكورة آنفا . ولم يكن معروفا قبل ذلك مقاومة هذا الميكروب لأى من المضادات الحيوية . واستمرت المقاومة للمضادات تنتشر بين سلالات هذا الميكروب حتى أصبحت نصف سلالات الشيجللا Shigella المعزولة فى اليابان مقاومة لتأثير المضادات الحيوية . وتكرر ذلك فى أماكن أخرى مثل بريطانيا وغيرها (شكل ٩ـ٣٦) .











شكل ٩ـ٣٦ : انتقال البلازميدات المعدية وانتشارها يؤدى الى زيادة لوغاريتمية فى اعداد الخلايا التى تصبح موجبة بالنسبة لوجود البلازميد بها وذلك بمرور الوقت...

توجد عوامل مقاومة أخرى مثل عامل الكوليسين Col factor وعامل الكوليسين عبارة عن بلازميد يحتوى على جينات مسئولة عن انتاج مواد بروتينية سامة Toxins تسمى Colicins تنتجها بعض سلالات من

بكتيريا القولون E.coli ضد سلالات البكتيريا القريبة منها • وبكتيريا القولون E . coli تكون غير حساسة للمواد السامة (الكوليسين) الذى تفرزه •

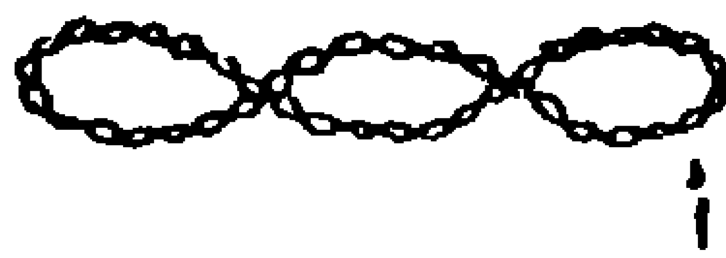
كما أن قدرة بكتيريا سودوموناس Pseudomonas على تحليل العديد من المركبات العضوية (غير القابلة للتحلل بواسطة العديد من الأحياء الدقيقة الأخرى) مثل الأوكتان Octane والساليسلات Salicylate والكامفور Camphor ترجع الى أن الانزيمات المسئولة عن تحطيم هذه المركبات تكون ناتجة عن مورثات (جينات) موجودة فى بلازميدات التحطيم Degradative Plasmids مثل بلازميد الأوكتان Octane Plasmid وبلازميد الساليسلات Salicylate Plasmid وبلازميد الكامفور Camphor Plasmid • وهذه البلازميدات تنتقل اثناء التزاوج بين الخلايا •

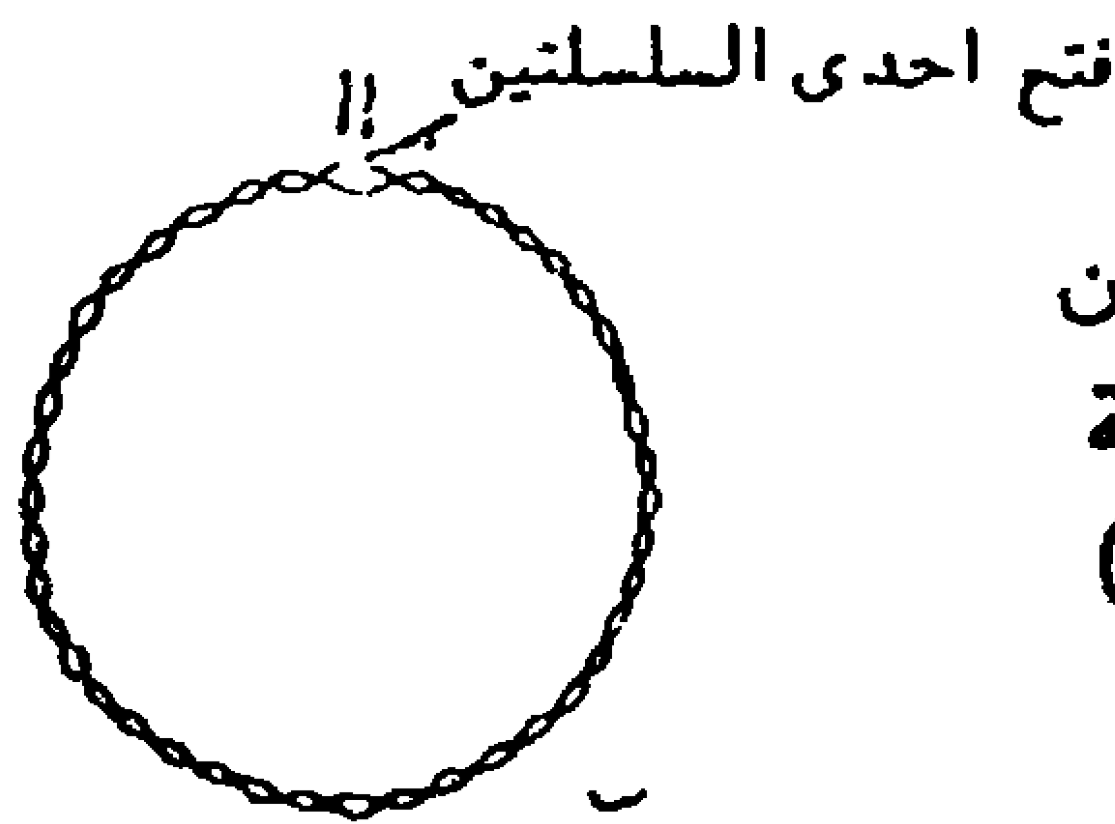
-- كما أن بكتيريا Staphylococus aureus وهى ميكروب مرض هام بالنسبة للانسان ، فهى تغزو الجروح بصفة خاصة وتكون الدمامل ،وكانت تعالج كثيرا بالمضاد الحيوى البنسلين بنجاح تام ، ولكن ظهرت أول سلالة من هذا الميكروب مقاومة للبنسلين فى عام ١٩٥٠م ثم أصبحت معظم سلالات هذا الميكروب المعزولة فى جميع أنحاء العالم ذات مقاومة شديدة للبنسلين •

ويرجع ذلك لوجود بلازميد خاص يسمى عامل البنسلينيز Penicillinase factor يحتوى على مورثات (جينات) genes مسئولة عن انتاج انزيم البنسلينيز Penicillinase الذى يحلل المضاد الحيوى البنسلين ، وبذلك لا تتأثر البكتيريا المذكورة بالبنسلين •

(٣) البلازميدات الصغيرة يوجد منها العديد فى الخلايا وهى عادة غير معدية Not infectious أى لا تنتقل من الخلية المعطية الى الخلية المستقبلة خلال عمليات التزاوج • أما البلازميدات الكبيرة فيوجد منها فى الخلية من ١ـ٣ بلازميدات ، وهى عادة معدية •

(٤) توجد معظم البلازميدات في الخلايا في صورة جزيئات دن أ DNA حلقي مزدوج السلسلة ملتف Supercoiled closed circular duplex وقد تنفصل احدى السلسلتين تمهيدا لنقل نسخة من البلازميد الى الخلية المستقبلة خلال عملية التزاوج Conjugation . وعندئذ يسمى السلسلة الحلقية المفتوحة Open circular duplex وقد تفتح السلسلتين تمهيد لاتصال البلازميد مع كروموسوم الخلية في حلقة واحدة . والبلازميد المفتوح يأخذ الشكل المعروف بالسلسلة المستقيمة Linear duplex (شكل ٩ـ٣٧) .





شكل ٩ـ٣٧ : رسم توضيحي يبين جزيء دن أ الحلقي مزدوج السلسلة الملتف (أ) والحلقي المفتوح (ب) والمستقيم (جـ) ..



وكثيرا ما ينظر الى الفيروسات المعتدلة Temprate viruses على أنها بلازميدات . ولولا أنها تتحول من حالة الفيروسات المعتدلة الى حالة الفيروسات المحللة لاعتبرت بالتأكيد بلازميدات كبيرة .

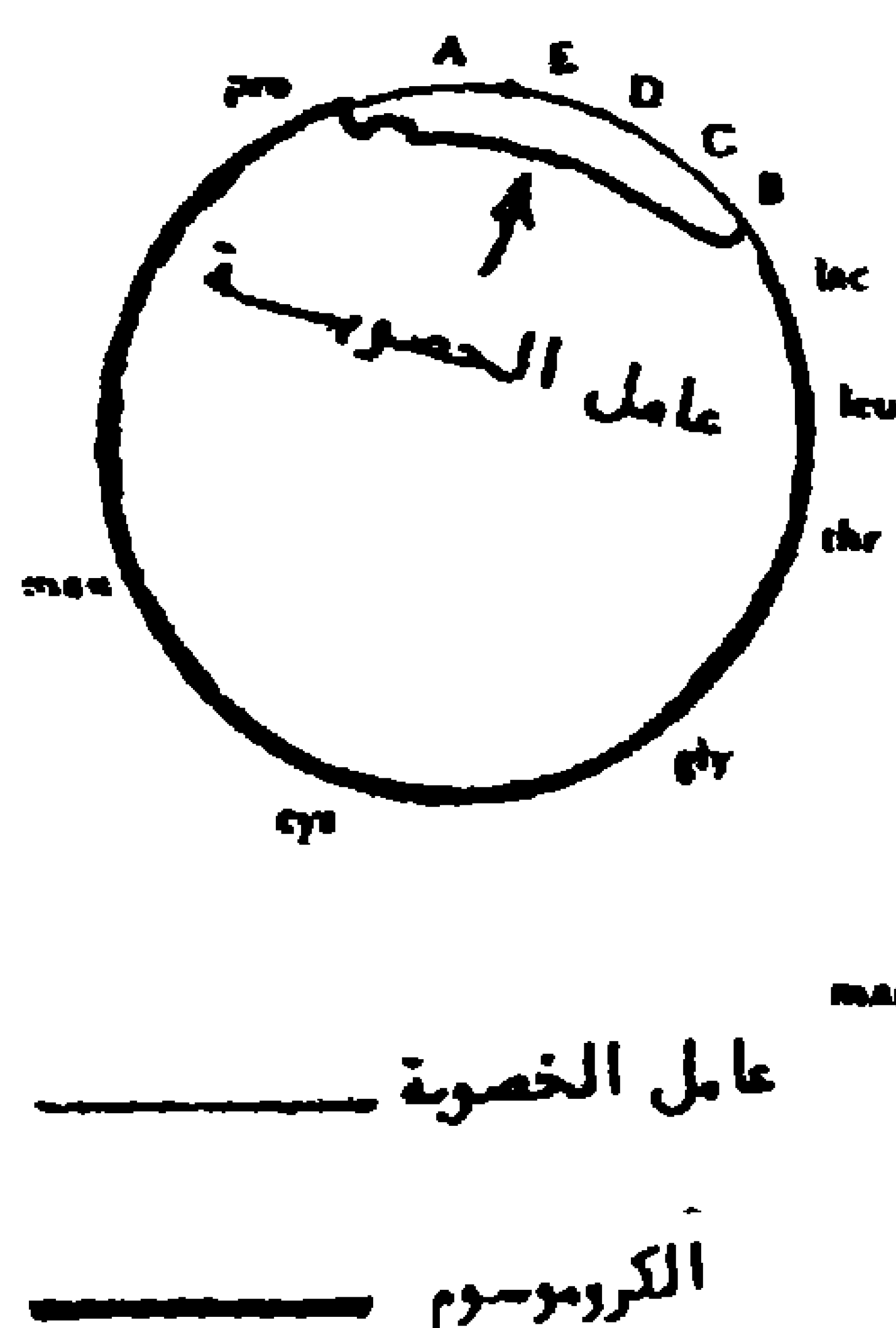
(٥) قد تتصل بعض البلازميدات بكروموسوم الخلية عن طريق عملية اتصال مزدوج (عبور وراثي) Cross over . وعند اتصال البلازميد مع كروموسوم الخلية فانه لا يتضاعف أو ينسخ مستقلا بذاته (كما سبق الاشارة اليه) بل يصبح تضاعفه أو تناسخه مرتبطا ارتباطا كليا بتضاعف كروموسوم الخلية ـ كما أن البلازميدات المتصلة (المتكاملة) Integrated

مع الكروموسومات يمكنها الانفصال عن الكروموسوم ، وفى هذه الحالة يمكنها استعادة استقلالية انقسامها وتكاثرها عن الكروموسوم .

وهذه الحالة الخاصة بقدرة البلازميد على الاتصال (التكامل) Integration مع كروموسوم الخلية تنطبق بصفة خاصة على العامل الجنسى Sex factor أو عامل الخصوبة F factor وعلى الفيروسات المعتدلة Temprate viruses.

وسيتم مناقشة الفيروسات المعتدلة في الباب السادس بالتفصيل ، أما ما يهمنا هنا هو اتصال Integration العامل الجنسى Sex factor فى الخلايا المذكرة F^+ (ذو القدرة على الانتقال من الخلية المعطية الى الخلية المستقبلة أثناء التزاوج) مع كروموسوم الخلية عن طريق عملية اتصال مزدوج (عبور وراثى) Cross over

وتؤدى عملية الاتصال المزدوج (العبور الوراثى) هذه الى تكوين حلقة واحدة تحتوى على كلا من الكروموسوم والعامل الجنسى معا . والخلايا التى يحدث فيها مثل هذا الاتصال تسمى خلايا ذات قدرة عالية على نقل الصفات الوراثية High Frequency recombinant ويرمز لها بالرمز Hfr . والخلايا ذات القدرة العالية على نقل الصفات الوراثية Hfr هى خلايا ذكرية اتصل فيها الكروموسوم بالعامل الجنسى. وهذا النوع من الخلايا على جانب كبير من الأهمية ، اذ أنه عندما تتزاوج خلاياه مع خلايا مؤنثة F^- فان العامل الجنسى والمتصل بالكروموسوم فى الخلية المعطية ــ فى هذه الحالة Hfr ــ ينفتح لتتوجه احدى السلسلتين الى الخلية المستقبلة F^- . واذا ترك التزاوج مستمرا دون فصل لأزواج الخلايا لزمن كاف فانه لا تنتقل فقط نسخة من العامل الجنسى ، بل أيضا تنتقل نسخة من كروموسوم الخلية المعطية الى كروموسوم الخلية المستقبلة . والجزء الأول من كروموسوم الخلية المعطية الذى يصل الى الخلية المستقبلة هو أقرب جزء من الكروموسوم عند اتصاله بالعامل الجنسى (شكل ٩ـ٣٨) .



شكل ٩ــ٣٨ : كروموسوم لخلية Hfr
حيث يندمج الكروموسوم مع عامل الخصوبة ، وعند التزاوج وانفتاح عند الانتقال الى الخلية المستقبلة احدى السلسلتين فان المورثات (الجينات) التى على الكروموسوم تنتقل مع عامل الخصوبة الذى ينتقل الى الخلية المستقبلة مؤديا الى انتقال بعض الصفات الوراثية من الخلية المعطية الى الخلية المستقبلة ٠٠

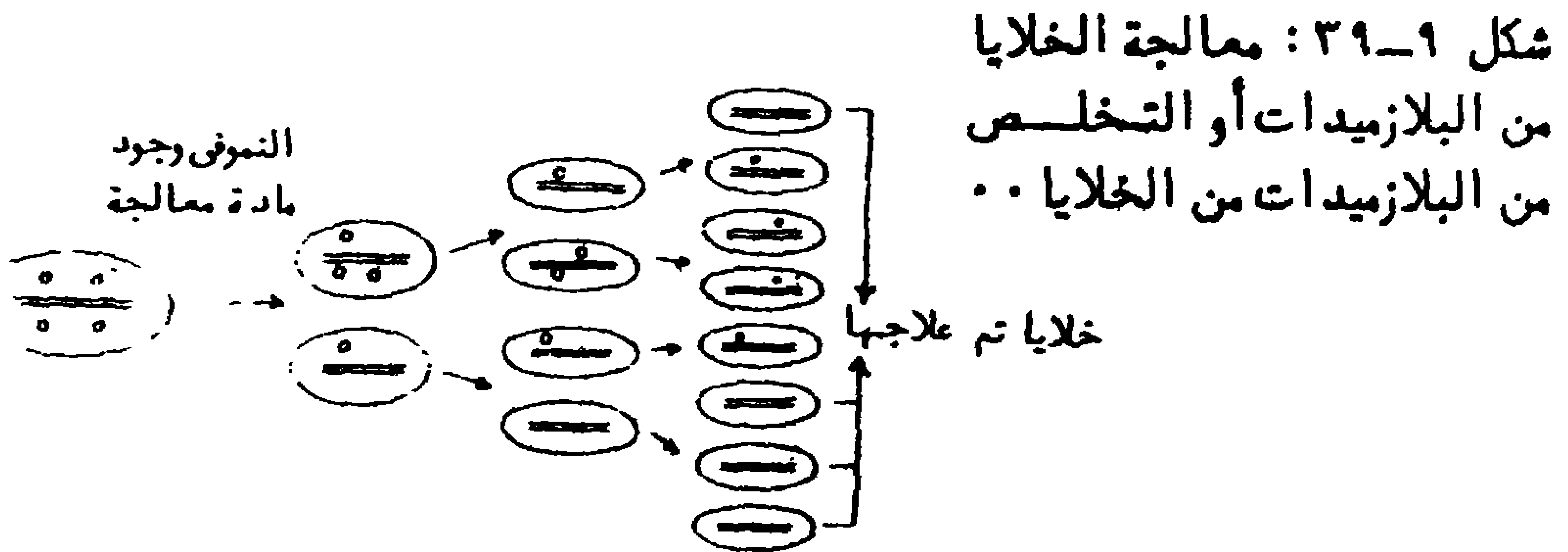
فاذا عرف بالضبط موقع اتصال العامل الجنسى بالكروموسوم ورتبت ظروف خاصة فى عمليات التزاوج أمكن معرفة تسلسل المورثات (الجينات) على كروموسوم الخلية وهذا بالفعل ما تم٠ وقد أمكن بذلك تحديد تسلسل المورثات (الجينات) على كروموسوم بكتيريا القولون E. coli وتسمى هذه العملية باسم رسم خريطة الكروموسوم Chromosome mapping وسنشرح هذه العملية بالتفصيل فى الفصل التاسع عشر ٠

وينبغى الاشارة كما ذكرنا سابقا أن البلازميدات المتصلة بالكروموسوم يمكنها الانفصال ثانية عنه وتستعيد بذلك استقلالية انقسامها وهذا ما يحدث أيضا بالنسبة للعامل الجنسى ، فقد ينفصل عن الكروموسوم فى خلايا Hfr ليكون خلايا F^+ ٠ وبذلك نجد أن كل مجتمع من خلايا F^+ يحتوى على نسبة من خلايا Hfr وكل مجتمع من خلايا Hfr يحتوى على نسبة من خلايا F^+.

وعند انفصال العامل الجنسى عن الكروموسوم فانه ينفصل فى أغلب الأحيان عند مكان اتصاله بالضبط٠ الا فى حالات قليلة فيحمل معه قطعة من كروموسوم الخلية مكونا خلايا F' لتمييزها عن F1 والعامل F' يحمل صفات وراثية كروموسومية ٠

(٦) يمكن التخلص من البلازميدات في الخلايا بدون قتل الخلايا بواسطة عمليات مختلفة تسمى " المعالجة Curing " وتنحصر تلك العمليات في تثبيط انقسام البلازميدات دون تثبيط مواز لانقسام الكروموسوم ، وكنتيجة للانقسام المستمر للخلايا يتم تخفيف البلازميدات في المستعمرة . وقد تحدث عملية المعالجة كطفرة عشوائية في الطبيعة ، ولكن يمكن المساعدة على احداثها بنسبة كبيرة بالمعاملة بصبغات الاكريدين أو ملح بروموړ (بروميد) الايثديم Ethidium bromide أو بمعاملات خاصة أخرى (شكل ٩ـ٣٩) .

شكل ٩ـ٣٩ : معالجة الخلايا من البلازميدات أو التخلص من البلازميدات من الخلايا . .



٦ - الفجيوات الغازية Gas vesicles

تعيش عدد من الكائنات ذات النواة البدائية طافية على سطح البحيرات والبحار بفعل فجيوات غازية Gas vesicles ويختلط الأمر احيانا بالنسبة لهذه الفجيوات بحبيبات الفوليوتين وكان لفظ فجوات غازية Gas vacules يستعمل في الماضي ، ولكن الفجيوات الغازية Gas vesicles أصبح مفضلا الآن . وعندما تتجمع مجموعة من الفجيوات الغازية Gas vesicles في مكان محدد من الخلية فانه يطلق عليه اسم الفجوة الغازية Gas vacules . وأكثر الأمثلة وضوحا على

وجود الفجيوات الغازية هو البكتيريا الخضراء المزرقة Blue green bacteria والتى تسمى الآن Cyanobacteria (وكانـــت تسمى فى الماضى الطحالب الخضراء المزرقة Blue green algae) والتى تكون تراكمات كبيرة Blooms فى البحيرات • وتطفو هذه البكتيريا على سطح البحيرات وتحملها الرياح فى كتل كبيرة • وعند وضع عينة من مياه البحيرات المحتوية على هذه الكائنات فى زجاجة فانها تطفو على السطح فى مدى دقائق قليلة ولكن اذا تحطمت الفجيوات الغازية فان هذه البكتيريا ترسب الى القاع •

والفجيوات الغازية توجد فى السيتوبلازم ، وهى ذات شكل مغزلى Spindle (شكل ٩ـ٤٠) مفرغ hollow ولكنه صلب Rigid وذو طول مختلف ولكنها ذات قطر ثابت ، وتتراوح من عدد قليل الى عدة مئات فى الخلية الواحدة ، وغشاء هذه الفجيوات لا يشبه الأغشية الخلوية ذات الطبقة الدهنية المزدوجة ، ولكنه يتكون من وحدات بروتينية مرتبة لتكون تركيبا صلبا • وغشاء الفجيوات غير منفذ للماء أو المواد الذائبة فيه ولكنه منفذ للغازات فقط ، وبذلك تكون هذه الفجيوات الغازية محاطة بمكونات السيتوبلازم •

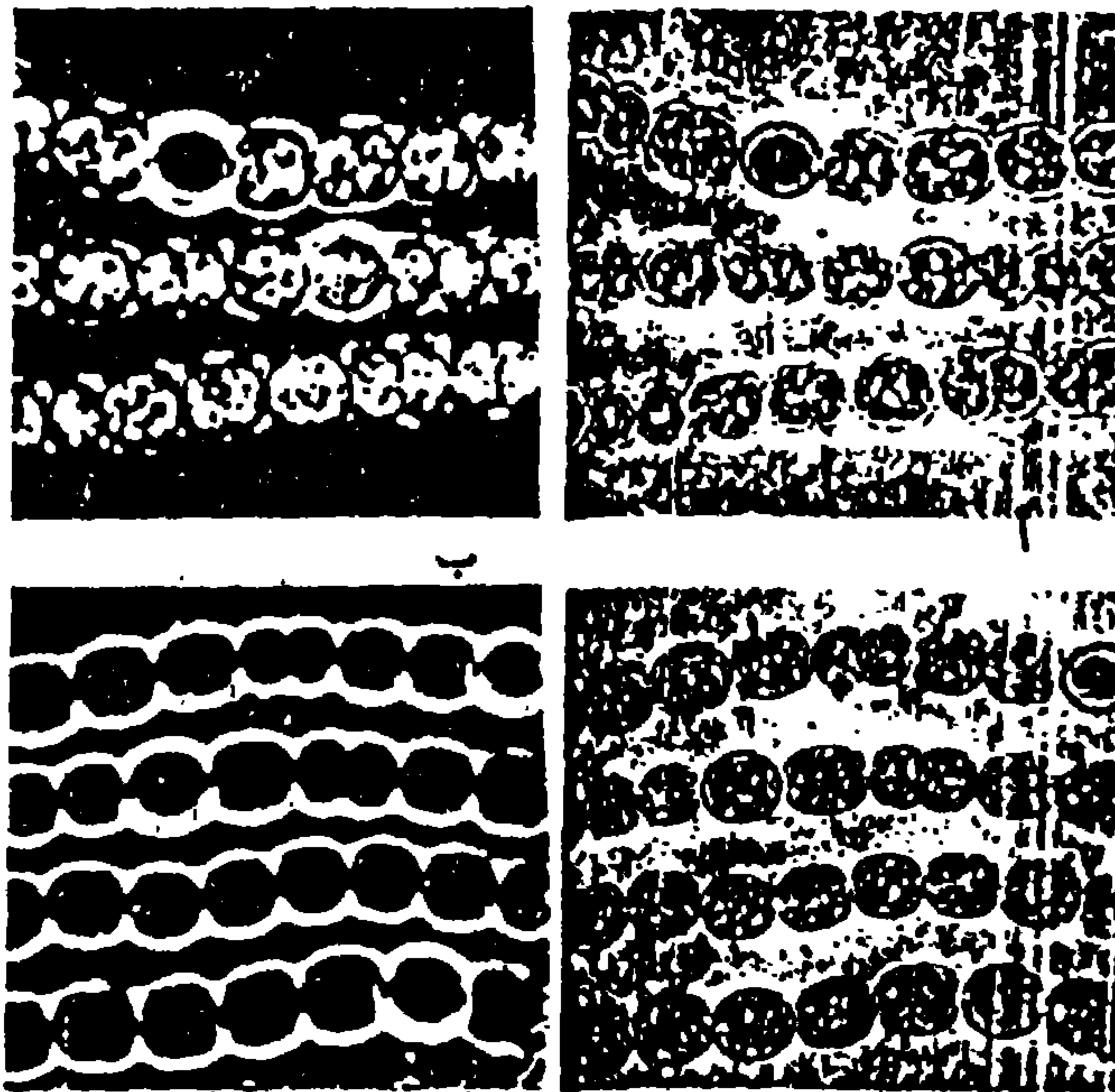


شكل ٩ـ٤٠ : صورة بالمجهر الالكترونى •
أـ قطاع رقيق من Oscillatoria يوضح التركيب الداخلى لفجيوات الغاز الأسطوانية الشكل •
ب ـ فجيوات الغاز المذكورة مصبوغة صبغا سالبا ذات شكل صلب منتظم •

وهذه الصلابة لغشاء الفجيوات الغازية أساسية حتى تستطيع هذه الفجيوات مقاومة الضغط الواقع على جدرانها من الغاز الموجود بداخلها أو من خارجها ، وربما لهذا السبب لم يكن هذا الغشاء مماثلا للأغشية الأخرى التى تتكون من الفوسفوليبدات القابلة للتمدد والانكماش نتيجة للضغوط المختلفة عليها .

وعلى أى حال ، فان قدرة الغشاء البروتينى لفجيوات الغاز ذو قدرة محدودة على تحمل الضغط وقد يتهشم Collapse مسببا فقد الغاز ورسوب الخلايا الى القاع.

ويمكن رؤية فجيوات الغاز بواسطة المجهر (التباين) المميز للأطوار Phasecontrast أو المجال المضىء Bright field (شكل ٩ـ٤١) .



شكل ٩ـ٤١ : خيوط البكتيريا الخضراء المزرقة أنابنا Anabaena لتوضيح وجود فجيوات الغاز كما تم رؤيتها :
أ ـ بالمجهر الضوئى (الحقل المضىء) .
ب ـ بمجهر التباين (المميز للأوساط) .
جـ ـ نفس الخلايا بالمجهر الضوئى بعد تهشم الفجيوات.
د ـ نفس الخلايا بمجهر التباين بعد تهشم الفجيوات.

٧- الأجسام والمواد المخزنة Inclusions and reserve materials

يوجد أجسام ومواد أخرى يمكن رؤيتها بالمجهر الالكتروني أو الضوئي داخل الخلايا ذات النواه البدائية ٠ وتختلف طبيعة هذه المواد باختلاف الكائن الحي الدقيق٠

أ- المواد المخزنة العضوية غير النيتروجينية

يوجد نوعين من المواد المخزنة العضوية غير النيتروجينية ، كل منهما يمكن أن تمثل مخزنا للكربون أو الطاقة ٠ وهما شائعين فى البكتريا (جدول ٩-٥) ٠٠ الأول عبارة عن عديد التسكر المكون من وحدات جلوكوز مرتبطة بالرابطة ألفا ١-٤ جلوكان ∝ 1-4 glucan مثل النشا والجليكوجين ، والثانى هو عديد الاستر للبيتاهيد روكس حمض البيوتريك Polyester of β-hydroxybutyric acid ويسمى عديد بيتاهيد روكسى حمض البيوتريك Poly β-hydroxy butyric acid.

والنوع الأول من المواد المخزنة شائع أيضا فى الأحياء ذات النواه الحقيقية ٠ أما الثانى فلا يوجد الا فى الأحياء الدقيقة ذات النواه البدائية ٠ كما تتميز الكائنات ذات النواة البدائية بعدم تخزين الدهون المتعادلة مختلفة بذلك عن كثير من الأحياء ذات النواه الحقيقية ٠

وكقاعدة عامة يتكون نوع واحد من المواد المخزنة فى نوع معين من البكتيريا وعلى ذلك فعدد كبير من أنواع بكتيريا القولون Enteric bacteria والبكتيريا اللاهوائية المتجرثمة التابعة لجنس كلوستريديم Clostridium تكون الجليكوجين أو النشا كمادة مخزنة بينما العديد من البكتيريا التابعة لسودوموناس Pseudomonas - ازوتوباكتر Azotobacter - اسبيريللام Spirillum - باسيلس Bacillus تكون البولى بيتاهيد روكسى حمض بيوتيريك٠ وكخروج عن هذه القاعدة العامة يوجد عدد محدود جدا من البكتيريا يمكنه تكوين النوعين من مواد التخزين مثل

جدول ٩ـ٥ : توزيع المواد العضوية غير النيتروجينية المخزنة بين بعض ذوات النواة البدائية

الجليكوجين	بولي بيتا هيد روكسي بيوترات	جليكوجين + بولي بيتا هيد روكس بيوترات	لا يوجد مواد تخزين
البكتيريا الخضراء المزرقة		أفراد قليلة من البكتيريا الخضراء المزرقة	البكتيريا الخضراء
معظم بكتيريا الأمعاء Entric bacteria	من بكتيريا الأمعاء	البكتيريا البنفسجية الممثلة للضوء .	العديد من أفراد سود وموناس . Pseudomonas
ما عدا تلك التي تخزن بولي بيتاهيد روكس بيوترات في العمود التالي	بنكيا Beneckea Photobacterium فوتو باكتيريم		أسينتو باكتر Acinetobacter
	العديد من سود وموناس Psuedomonas أزوتوباكتر Azotobacter		
معظم الباسليس Bacillus والكلوستريد يم Clostridium	Beijerinickia Derxia Rhizobium *Moraxilla* Spirillum Sphaerotilus بعض أنواع Bacillus		

البكتيريا البنفسجية الممثلة للضوء ٠

تتوزع المواد المخزنة عديدة التسكر توزيعا منتظما الى حد ما فى السيتوبلازم ويمكن الكشف عن ذلك بوضوح بالمجهر الالكترونى ، ولكن لا يمكن ملاحظته عادة بالمجهر الضوئى ٠ ويمكن الكشف عن المواد المخزنة عديدة التسكر فى الخلايا بالمعاملة بمحلول يود ذائب فى محلول يوديد بوتاسيوم ٠ وهذا المحلول يصبغ السلاسل غير المتفرعة من عديد الجلوكوز مثل النشا باللون الأزرق القاتم ، بينما يصبغ السلاسل المتفرعة من عديد الجلوكوز مثل الجليوكوجين باللون البنى المحمر ٠٠٠ أما حبيبات البولى بيتا هيد روكسى حمض البيوتريك فيمكن رؤيتها بسهولة بالمجهر الضوئى فتبدو كحبيبات لامعة ذات أحجام مختلفة مبعثرة فى الخلية ، وهذه الحبيبات تصبغ بصبغة خاصة مثل صبغة أسود سودان Sudan black ٠ وهذه الصبغة تصبغ أيضا الدهون المخزنة فى الأحياء الدقيقة ذات النواه الحقيقية ٠

ولهذا السبب فان مخزون البولى بيتا هيد روكسى حمض البيوتريك فى بعض البكتيريا عرف خطأ على أنه دهون مخزنة ٠ ولذلك تنص بعض المراجع على وجود دهون كمادة مخزنة فى بعض أنواع البكتيريا ٠

وبصفة عامة ، فان هذه المواد المخزنة تكون قليلة فى الخلايا النشطة النمو ولكنها تتراكم بكثرة فى الخلايا التى تنمو فى وسط محدود النيتروجين فى وجود فائض من المصدر الكربونى ٠ تحت هذه الظروف يقل بناء البروتين والأحماض النووية بينما يتحول الكربون الى مواد مخزنة قد تصل الى ٥٠٪ من الوزن الجاف للخلايا ٠

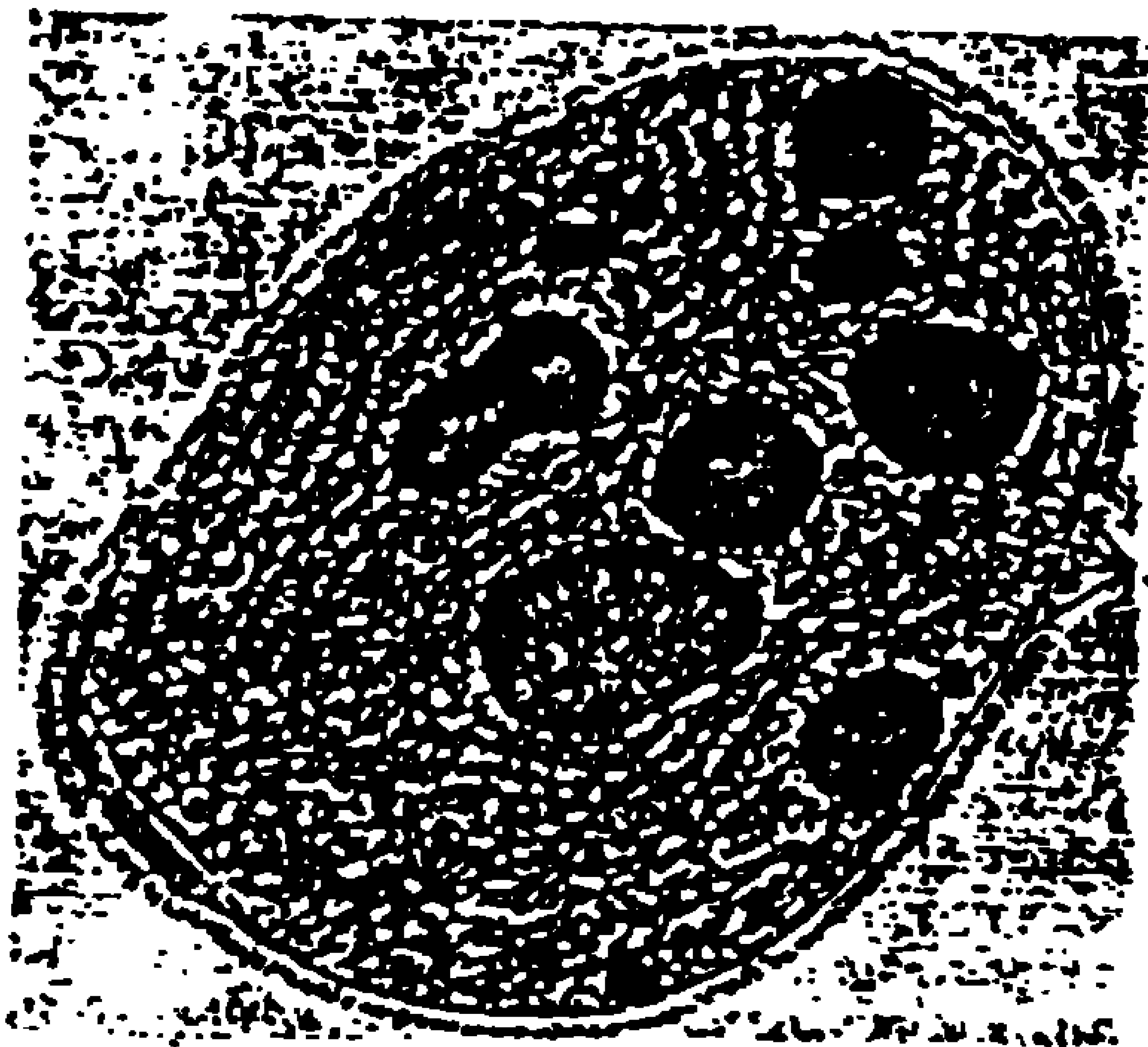
واذا حرمت مثل هذه الخلايا من مصدر الكربون وزودت بمصدر نيتروجينى قابل للاستعمال (مثل كلوريد الامونيوم) فان المواد المخزنة تستخدم لبناء البروتين والأحماض النووية ٠ والأساس فى تخزين عديد الجلوكوز أو البولى بيتا هيد روكس حمض البيوتريك هو تخزين مواد خاملة اسموزيا حتى يمكن للخلية تخزين أكبر قدر منها دون التأثير على نشاطات الخلية المختلفة ٠ أما بالنسبة لمادة البولى بيتا هيد روكسى

حمض البيوتريك فان تكوينها عن طريق روابط استرية لازالة الفعل الحمضى لمجموعة الكربوكسيل يشكل أهمية أخرى للمحافظة على درجة تركيز ايـــون الايدروجين pH فى سيتوبلازم الخلية ٠

ولذلك فان تحويل كلا من الجلوكوز والبيتا هيدروكس حمض البيوتريك الى عديدات متكثفة يمنع حدوث تأثيرات فسيولوجية شديدة الضرر بالخليـة لو استمر تراكم الجلوكوز وبيتا هيدروكسى حمض البيوتريك على صورتيهمـــا دون تكثف فى الخلية ٠

ب ـ المواد المخزنة النيتروجينية :

بصفة عامة لا تنتج البكتيريا مواد تخزين داخلية نيتروجينية ٠ ولكن عددا من البكتيريا الخضراء المزرقة يتراكم بها مواد عضوية نيتروجينيـــة كمواد تخزين مثل تراكم مادة السيانوفايسين Cyanophycin عندما تقتـرب المزرعة من طور الثبوت (السكون) Stationary Phase ٠ وحبيبـــات السيانوفايسين لها تركيب مميز الشكل فى صور المجهر الالكترونى (شكـل ٩ ـ ٤٢) وقد تم عزلها ودراسة خواصها ، واتضح أنها تتكون مـــن الأحماض الأمينية الهستدين والأرجنين ٠ وقد تصل هذه المادة الـــى حوالى ٨٪ من الوزن الجاف للخلية ولكنها سرعان ما تختفى عند بدايـة النموثانية ٠ ولا تتكون هذه المادة على نظام بناء بروتينات الخلية حيـث أنها تتراكم بعد ايقاف نظام بناء البروتينات الخلوية بواسطة الكلورامفنيكول Chloramphinicol .



شكل ٩ ـ ٤٢ : صورة بالمجهـــر الالكترونى للبكتيريا الخضراء المزرقة والتى تحتوى على السيانوفايسين

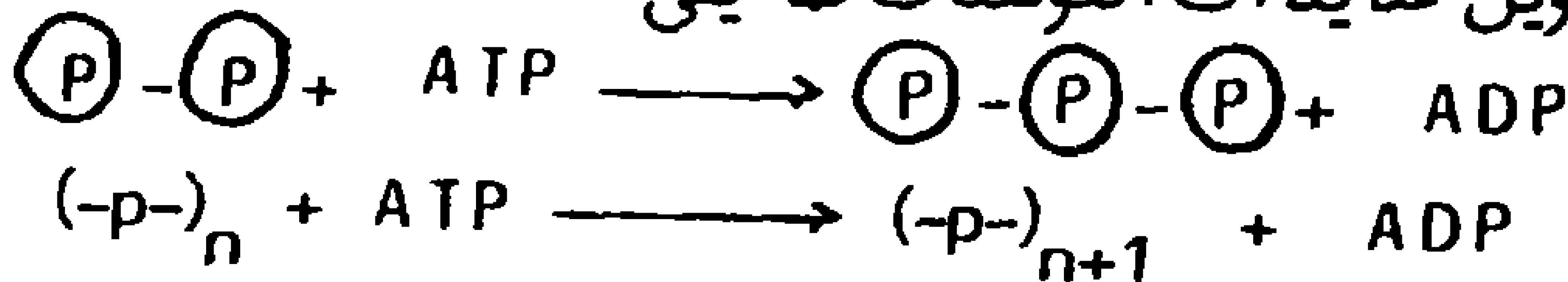
جـ ــ حبيبات الفوليوتين Volutin granules :

يقوم عدد كبير من الأحياء الدقيقة ذات النواه البدائية وذوات النواه الحقيقية بتخزين حبيبات الفوليوتين التى تصبغ بالصبغات القاعدية مثل أزرق التوليدين Toluidin blue أو أزرق الميثلين Methylene blue (شكل ٩ــ٤٣).



شكل ٩ــ٤٣ : صورة لتوضيح حبيبات الفوليوتين فى بكتيريا سبيريللم والمصبوغة بصبغة أزرق الميثلين .

وتسمى هذه الحبيبات أحيانا الحبيبات الملونة Metachromatic granules نظرا لخاصيتها فى تغيير اللون ، فهى تظهر حمراء عندما تصبغ بصبغة زرقاء . وتبدو هذه الحبيبات كثيفة جدا فى صور المجهر الالكترونى لوجود كميات كبيرة من الفوسفات غير العضوية بها .. وهى تتكون من سلاسل مستقيمة ذات أطوال مختلفة من عديدات الأرثوفوسفات المبلمرة (Polymer) وتتكون حبيبات الفوليوتين فى الخلايا نتيجة عدم تزويد الخلايا بأى من عدد من العناصر الغذائية . وعدم تزويد الخلايا بالكبريتات Sulfates starvation بالذات ذات تأثير واضح فى توجيه الخلايا لتخزين الفوليوتين . وعند اضافة الكبريتات ثانية فان حبيبات الفوليوتين تختفى وتتجه الفوسفات المتكونة عنها لبناء الأحماض النووية . ويتم تكوين عديدات الفوسفات كما يلى :



$$Ⓟ-Ⓟ + ATP \longrightarrow Ⓟ-Ⓟ-Ⓟ + ADP$$

$$(-p-)_n + ATP \longrightarrow (-p-)_{n+1} + ADP$$

ويؤدى تحلل عديد الفوسفات (الفوليوتين) الى انتاج ATP كما يلى:



$$Ⓟ-Ⓟ-Ⓟ + ADP \longrightarrow Ⓟ-Ⓟ + ATP$$

حيث ترمز Ⓟ الى مجموعة فوسفات ، ADP الى أدينوزين ثنائى الفوسفات ، ATP الى أدينوزين ثلاثى الفوسفات.

د ـ حبيبات الكبريت Sulfur granules

تتكون أحيانا حبيبات من الكبريت غير العضوى فى مجموعتين بكتيريتين وهما :

* بكتيريا الكبريت البنفسجية : Purple sulfur bacteria

هذه المجموعة من البكتيريا تستعمل كبريتور الأيدروجين بدلا من الأكسجين كمستقبل للالكترونات فى نهاية خطوات التنفس.

* البكتيريا الخيطية غير الممثلة للضوء مثل البيجياتوا Biggiatoa والثيوثريكس Thiothrix.

وهذه المجموعة من البكتيريا تستعمل كبريتور الأيدروجين ايضا كمادة قابلة للأكسدة لانتاج الطاقة.

يتم تكوين حبيبات الكبريت فى هاتين المجموعتين من البكتيريا بصفة مؤقتة، ويتكون عند وجود كبريتور الايدروجين فى وسط النمو، ولكن عند اختفائه فان الكبريت يتأكسد الى الكبريتات Sulfates.

هـ ـ أجسام أخرى

تحتوى بعض البكتيريا على أجسام أخرى مثل الكاربوكسيسومات Carb-oxysomes وفجيوات الكلوروبيم Chlorobium vesicles وفيما يلى نشرح كلاهما:

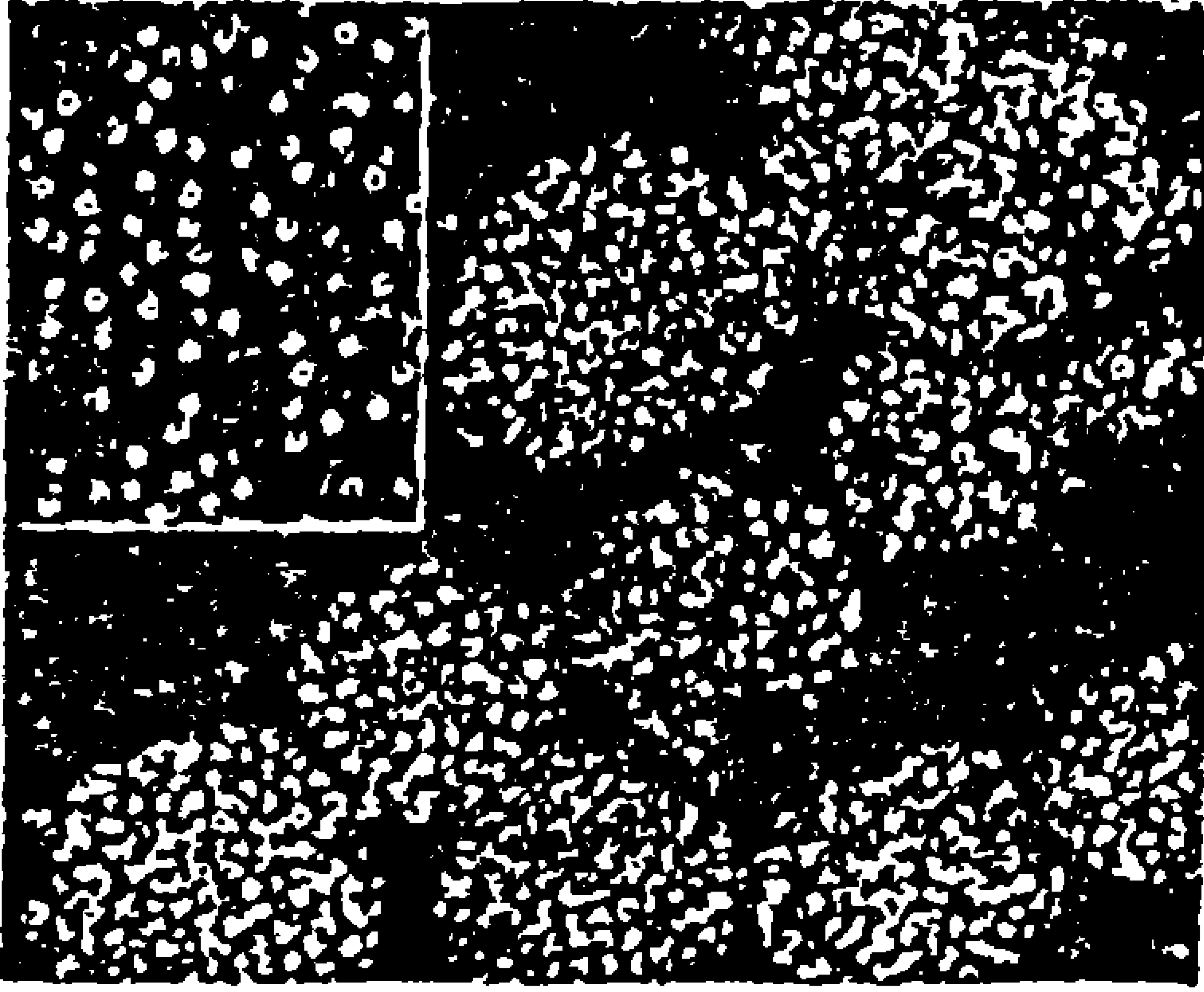
الكاربوكسيسومات Carboxysomes

ويحتوى عدد من البكتيريا الخضراء المزرقة (السيانوبكتيريا) وأفراد من البكتيريا الممثلة للضوء البنفسجية وعدد آخر من البكتيريا ذاتية التغذية غير الممثلة للضوء Chemolithotrophic على أجسام خاصة ذات أشكال متعددة الأوجه Polyhedron يتراوح قطرها من ٥٠ الى ٥٠٠ نانو ميتر ومحاطة بغشاء وحيد الطبقة Monolayer سمكه ٣,٥ نانوميتر.

ومكونات هذه الأجسام ذات تركيب حبيبى (شكل ٩ ـ ٤٤) • وقد عزلت هذه الأجسام ووجد أنها تحتوى على محتويات الخلية من انزيم الريبلوز ثنائى الفوسفات كاربوكسيليز Ribulose diphosphate carboxylase ويسمى أحيانا كاربوكسى ديسميوتيز Carboxydismutase وهذا هو الانزيم الاساسى المرتبط بتثبيت ثانى أكسيد الكربون CO_2 خلال دورة كالفين-بنسون • وفيما يبدو أن حبيبات الكاربوكسيسومات هى موقع تثبيت ثانى أكسيد الكربون فى الخلية البكتيرية فى الأنواع ذاتية التغذية المذكورة سابقا •



أ ـ صورة بالمجهر الالكترونى للخلية توضح العدد الكبير من هذه الأجسام



ب ـ صورة بالمجهر الالكترونى للتحضير من الكاربوكسيسومات مصبوغة بالصبغ السالب

شكل ٩ ـ ٤٤ : صورة مجهرية للكاربوكسيسومات فى بكتيريا ثيوباسيليس
Thiobacillus neapolitanus

فجيوات الكلوروبيم Chlorobium vesicles

تحتوى مجموعة واحدة من البكتيريا وهى البكتيريا الخضراء الممثلة للضوء على نظام خاص للتمثيل الضوئى وهى ذات شكل يشبه السيجار مرتبة فى طبقة منفصلة مميزة تحت الغشاء الخلوى (شكل ٩-٤٥) ويمكن رؤية هذه الأجسام بالمجهر الالكترونى فقط، ويبلغ عرضها حوالى ٥٠ نانوميتر بينما تبلغ فى الطول ١٠٠ الى ١٥٠ نانوميتر. ويحيط بها غشاء وحيد الطبقة Monolayered يتراوح فى السمك من ٣-٥ نانوميتر.



شكل ٩-٤٥ : صورة بالمجهر الالكترونى لفجوات الكلوروبيم المحضرة من بكتيريا كلوروبيم ثيوسلفاتوفيلم Chlorobium thiosulfatophilum مصبوغة بالصبغ السالب بالفوسفوتنجستات.

وتحتوى هذه الأجسام على كل صبغات التمثيل الضوئى.

- ولذلك تنفرد هذه المجموعة من البكتيريا عن غيرها من سائر الأحياء الدقيقة ذات النواه البدائية بتخصيص جسم خاص لأداء وظيفة معينة، وهى التمثيل الضوئى Photosynthesis.

- والجدول (٩-٦) يوضح الفروق بين الأحياء الدقيقة الخلوية بدائية النواه وحقيقية النواة.

جدول ٩-٦ : الفروق بين الأحياء الدقيقة الخلوية بدائية النواة وحقيقية النواة ...

بدائيـــة النواه	حقيقيـــة النواه
١- النواه بدائية (لا يوجد غشاء نووى)	النواه حقيقية (يوجد غشاء نووى)
٢- كروموسوم واحد يحمل جميع الصفات الوراثية .	عدد (أكثر من واحد) من الكروموسومات .
٣- الكروموسومات لا تحتوى على هستونات .	الكروموسومات تحتوى على هستونات .
٤- دنأ يوجد في النواه البدائية + عدد من البلازميدات .	دنأ يوجد فى النواه الحقيقية ، كذلك فى الميتوكوندريا والبلاستيدات .
٥- التكاثر بالانقسام الثنائى البسيط (المباشر) . وفى حالات نادرة بالتبرعم .	التكاثر عادة بالانقسام غير المباشر Mitoses . وفى حالات قليلة بالتبرعم .
٦- لا يتكون مغزل عند الانقسام .	يتكون مغزل (من أنابيب دقيقة) عند الانقسام .
٧- آلية التبادل الوراثى بأحد الطرق الآتية :- - النقل المباشر Transformation - بالتزاوج Conjugation - بالحمل بالفاج Transduction	آلية التبادل الوراثى باتحاد الجاميطات Fusion of gametes
٨- يؤدى التبادل الوراثى الى تكوين لاقحـــة (زيجوت) جزئى . Partial zygote ويكون ازدواج الصبغيات جزئى فى بعض المورثات فقط .	يؤدى اتحاد الجاميطات الى تضاعف عـــدد الكروموسومات فيتكون زيجوت (لاقحـــة) ثنائية الصبغيات Diploid وبذلك فـــان الخلايا توجد فى الحالة أحادية الصبغيات Haploid أو ثنائية الصبغيات Diploid .
٩- لا توجد نويات	توجد نويات .
١٠- لا توجد شبكة اندوبلازمية Edoplasmic reticulum	توجد شبكة اندوبلازمية
١١- لا توجد أجسام جولجى .	توجد أجسام جولجى .
١٢- لا يوجد ليسوسومات	قد يوجد ليسوسومات .
١٣- لا يوجد ميتوكوندريا .	يوجد ميتوكوندريـــا .

تابع جدول ٩ـ٦ : الفروق بين الأحياء الدقيقة الخلوية بدائية النواة وحقيقية النواة .

بدائيـــة النواه	حقيقيـــة النـــواه
١٤ـ لا يوجد بلاستيدات خضراء فى الأحيـــاء الممثلة للضوء .	يوجد بلاستيدات خضراء فى الأحياء الممثلـة للضوء .
١٥ـ الريبوسومات فى السيتوبلازم من نوع ٧٠س	ريبوسومات السيتوبلازم من نوع ٨٠ س .
١٦ـ وحدة الغشاء توجد فى الغشاء الخلوى فقط .	وحدة الغشاء توجد فى الغشاء الخلـــوى والعضيات مثل غشاء النواه وغشاء الميتوكوندريا وغشاء البلاستيدات .
١٧ـ لا توجد حركة سيتوبلازمية داخلية .	توجد حركة سيتوبلازميه داخلية تســـمح بحركة الأحياء الدقيقة كما فى البروتوزوا . وكذلك تؤدى الحركة السيتوبلازمية الى حركة بعض العضيات الهامة مثل أجسام جولجـــى وغيرها فى الخلايا .
١٨ـ يحتوى الغشاء الخلوى على أنظمة توليد الطاقة المقابلة للميتوكوندريا فى حقيقية النواه ويحتوى أيضا على أنظمة التمثيـــل الضوئى المقابلة للبلاستيدات الخضـــراء فى حقيقية النواه .	أنظمة توليد الطاقة لها عضيات مســـتقلة بذاتها ، وهى الميتوكوندريا . كمـــا أن أنظمة التمثيل الضوئى فى الأحياء الممثلـــة للضوء يتم فى عضيات مستقلة وهـــــى البلاستيدات ، أما الغشاء الخلوى فلا يقوم بهذه الوظائف .
١٩ـ لا يحتوى الغشاء الخلوى على ستيرولات (ما عدا بكتيريا الميكوبلازما) .	يحتوى الغشاء الخلوى على سيترولات .
٢٠ـ الأنظمة التالية غير معروفة فى بدائيـــة النواه :ـ	الأنظمة التالية معروفة ، وقد تكون موجودة فى حقيقية النواه :ـ
الابتلاع Phagocytosis	الابتلاع
الشرب Pinocytosis	الشرب
الفجوات الغذائيه Food vacuoles	الفجوات الغذائية
الفجوات المنقبضه Intractile vacuoles	الفجوات المنقبضة
الهضم الداخلى Intracellular digestion	الهضم الداخلى

تابع جدول ٩ـ٦ : الفروق بين الأحياء الدقيقة الخلوية بدائية النواة وحقيقية النواة .

بدائيـــة النواه	حقيقيـــة النواه
٢١ـ يحتوى الجدار الخلوى على مـــادة الببتيد وجليكان .	لا يحتوى الجدار الخلوى ـ ان وجد ـ علــى مادة الببتيد وجليكان .
٢٢ـ يوجد بالجدار الخلوى أحماض أمينية مـــن من نوع D .	لا يحتوى الجدار الخلوى على أحماض أمينية من نوع D .
٢٣ـ الحركة عادة بالأسواط ، وفى حالات نادرة بالانزلاق Gliding	الحركة اما بالأسواط أو الأهداب أو الأقدام الكاذبـــة .
٢٤ـ الأسواط عبارة عن أسطوانة حلزونية دقيقـة من وحدات بروتين الفلاجين Flagellin تمتد من خلال الجدار الخلوى ومثبتة بجهاز تثبيت خاص .	الأسواط تتركب من تسع أزواج من الليفات الدقيقة Microtubules مرتبة فى أسطوانة يوجد فى مركزها زوج عاشر من هذه الألياف ويغلفها كلها امتداد للغشاء الخلوى .
٢٥ ـ مواد التخزين عادة من البولى بيتا هيدروكسى بيوترات أو الجليكوجين أو الفولبيوتين .	مواد التخزين عادة من النشا أو الدهون أو الجليكوجين أو الفولبيوتين .
٢٦ ـ صغيرة الحجم نسبيا .	كبيرة الحجم نسبيا .
٢٧ ـ الجراثيم (الأبواغ) الداخلية شديدة المقاومة للحرارة .	الجراثيم (الأبواغ) أقل مقاومة للحرارة . أو الظروف البيئية غير المناسـبة .
٢٨ ـ يتراوح الشكل من كروى الى عصوى ـ حلزونى ، خيطى ـ نجمى أو غير منتظم الشكل .	الأشكال متعددة ومختلفة .

الفصل العاشر

تقسيم الأحياء الدقيقة بدائية النواة

تتميز الأحياء الدقيقة ذات النواة البدائية بصغر حجمها ، ولذلك فهى توجد فى الطبيعة فى بيئات صغيرة جدا Microenvironments . وحيث أن الطبيعة تحتوى على العديد من هذه البيئات .. لذلك فانه من المتوقع أن توجد فى الطبيعة أعداد كبيرة من الأحياء الدقيقة المختلفة اختلافا كبيرا . وفى الحقيقة فانه لا يوجد مجموعة من الأحياء بها من الاختلافات الفسيولوجية والبيوكيميائية كما فى مجموعة الأحياء ذات النواة البدائية .

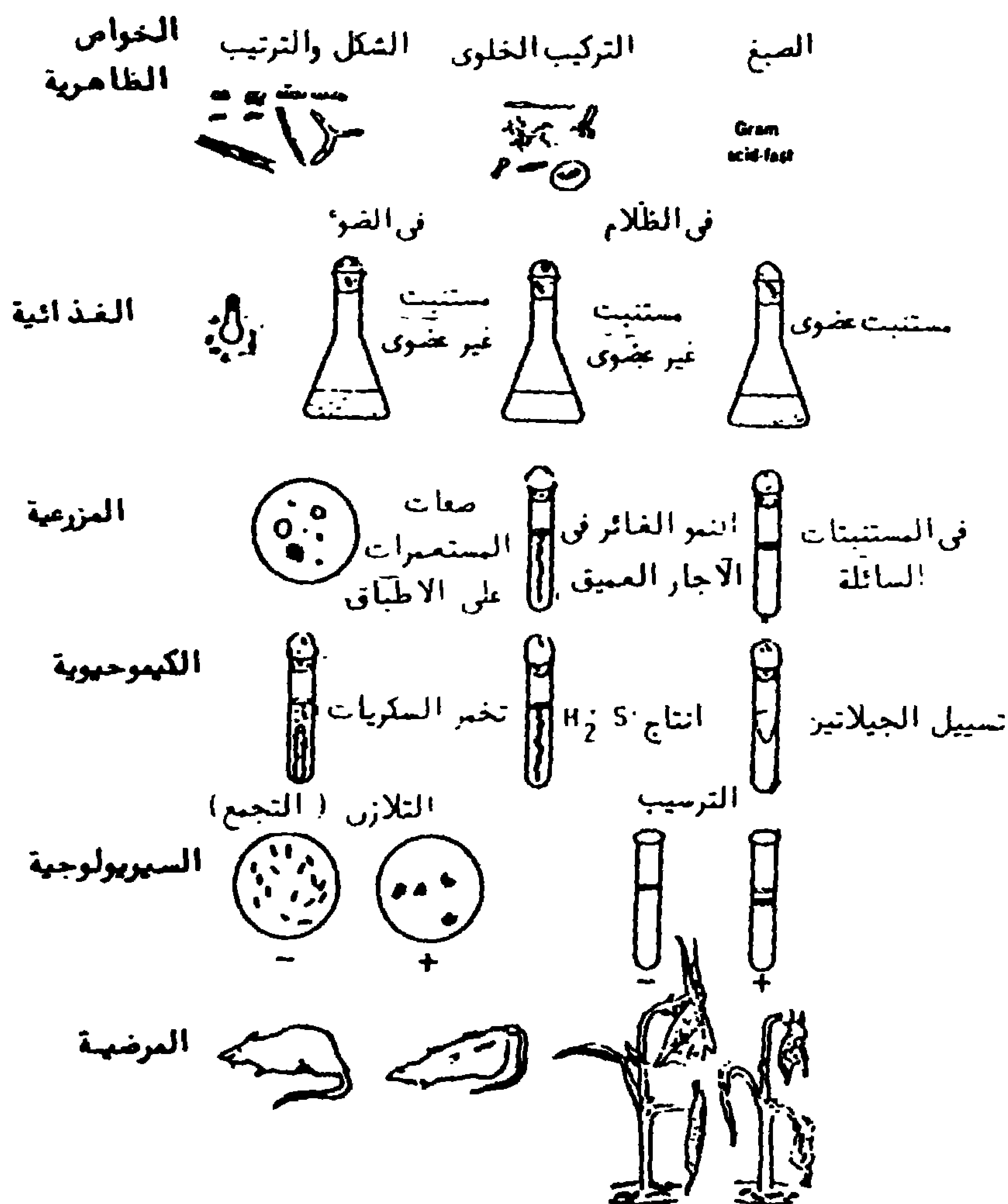
وأحد أهداف التقسيم هو اكتشاف العلاقة بين الكائنات الحية ، كما يفعل الكيميائيون بفحص الخواص المختلفة للعناصر الكيميائية التى تمكنهم من رسم العلاقة بين هذه العناصر لبناء الجدول الدورى للعناصر. ويجب هنا التمييز بين علم التقسيم Taxonomy وعلم التعرف على الأحياء Identification .. فعلم التقسيم هو محاولة ترتيب الأحياء وفقا لاختلافاتها . أما علم التعرف على الأحياء فهو عبارة عن التعرف على الأحياء تحت الدراسة ومدى مشابهتها للكائنات فى أى قسم من الأقسام التى تم وضعها فى علم التقسيم . ويجب ألا يختلط هذين التعريفين بالتسمية Nomenclature وهى وضع اسم لكائن حى .

وكل هذه الدراسات تدخل تحت الدراسات التصنيفية System-atics للبكتيريا . والوحدة التى يتم التعامل معها فى علم التقسيم هى النوع Species .

التقسيم الطبيعى للبكتيريا :

يعتمد تقسيم البكتيريا على العلاقة بينها أو بمعنى آخر كثرة أو قلة

التشابه بينها • وتوجد أساليب مختلفة لتحديد درجة التشابه بين البكتيريا المختلفة من الصفات الظاهرية (المورفولوجية) والفسيولوجية والمزرعية والمصلية والمرضية والبيئية وغيرها (شكل ١٠ ــ ١).ولا يوجد اتفاق تام على الأهمية النسبية لكل نوع من الصفات فى تقسيم البكتيريا. وكثيرا ما تعطى صفة معينة أهمية على غيرها من الصفات للحصول على



شكل ١٠ ــ ١ : شكل تخطيطى يوضح طريقة عزل والتعرف على البكتيريا

تقسيم طبيعى Natural classification أو تقسيم تطورى Phylogenetic classification للبكتيريا يوضح علاقة البكتيريا ببعضها على أساس منشأها المحتمل وتطورها . اذ يجمع البكتيريا ذات المنشأ المشترك مع بعضها البعض أكثر من تلك التى تختلف فى المنشأ . ويمكن الوصول لمثل ذلك التقسيم لو توفرت معلومات كافية عن سائر البكتيريا والحلقات المفقودة بينها ولكن ذلك غير متوفر حاليا ، ولذلك فبناء مثل ذلك التقسيم من الصعوبة بمكان فى الوقت الحالى .

التقسيم الاصطناعى للبكتيريا

ولذلك يستخدم نوع آخر من التقسيم يسمى التقسيم الصناعى Artificial system أو التقسيم الشكلى Phenotic system وهو يعتمد على صفات يسهل ملاحظتها .

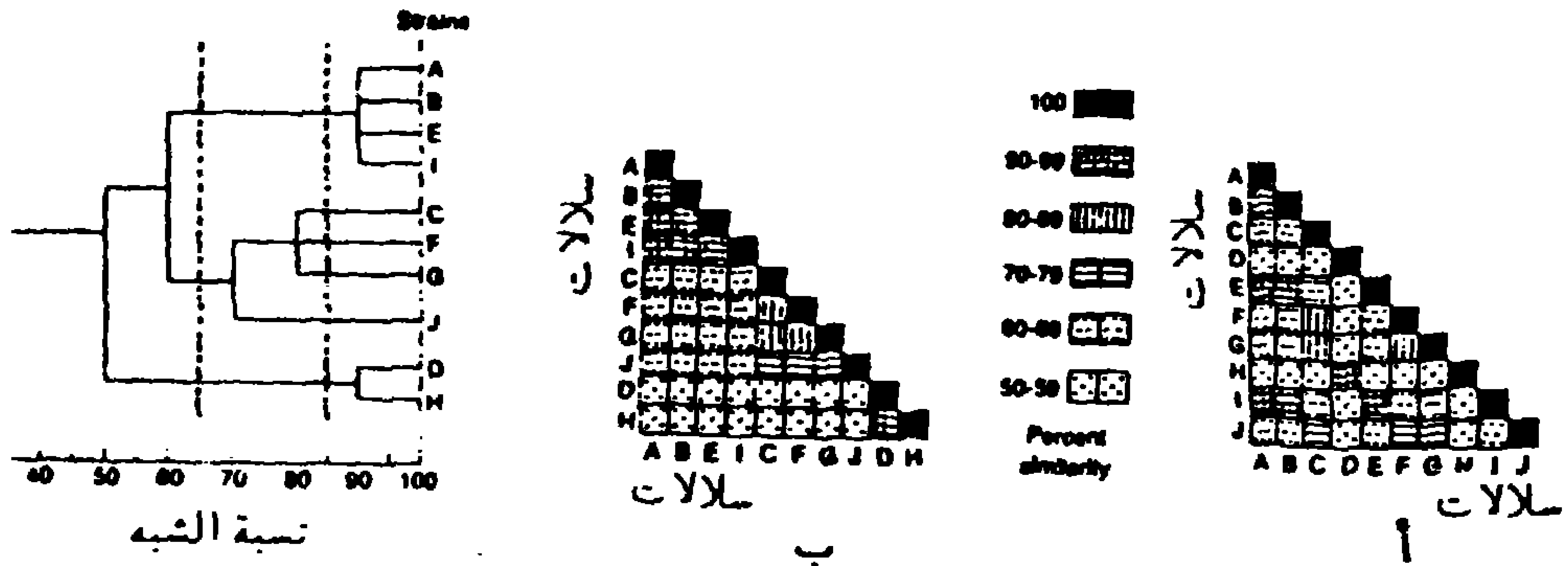
وهذا التقسيم ذو فائدة عملية لتعريف البكتيريا غير المعروفة بالاضافة الى أنه يبين العلاقات بين هذه الأحياء الدقيقة . وتعتمد طبيعة هذه العلاقات على المعايير المستعملة لتكوين هيكل التقسيم ، وبحكم الحاجة نشأ تقسيم البكتيريا على هذا الأساس، فمثلا يمكن الاستنتاج أن البكتيريا الكروية قريبة من بعضها البعض وأنها نشأت ووضعت مع بعضها منفصلة عن البكتيريا العصوية أو الحلزونية أو خيطية .

التقسيم العددى للبكتيريا

نظرا لعدم امكانية بناء تقسيم طبيعى للبكتيريا لقلة المعلومات المتوفرة عنها وعن الحلقات المفقودة فيما بينها . ونظرا لعدم كفاية التقسيم الاصطناعى أو الشكلى للبكتيريا لوضع هيكل تقسيمى ثابت ودائم ، فالقيمة التقسيمية للصفات المختلفة فى التقسيم الاصطناعى تتغير من وقت لآخر حسب الاكتشافات المستمرة .

لذلك فقد نشأ نوع آخر من التقسيم يسمى التقسيم العددى Numerical taxonomy وهو يأخذ فى الحسبان كل الاختلافات بنفس

القيمة التقسيمية . ومما سهل اجراء هذا النوع من التقسيم هو وجود الحاسبات الآلية التى تقوم بمقارنة البكتيريا المختلفة على أساس جميع الصفات المختلفة وتوضيح هذه الاختلافات فى جداول سهلة . ويعاب على هذا النوع من التقسيم عدم ايضاح الأهمية (القيمة) التقسيمية لبعض صفات هامة معينة على غيرها من الصفات ذات الأهمية المحدودة . لذلك فهذا التقسيم لا يوضح العلاقات التطورية التى يرجى الوصول اليها بالتقسيم الطبيعى (شكل ١٠ـ٢) .



شكل ١٠ـ٢ : التقسيم العددى للبكتيريا

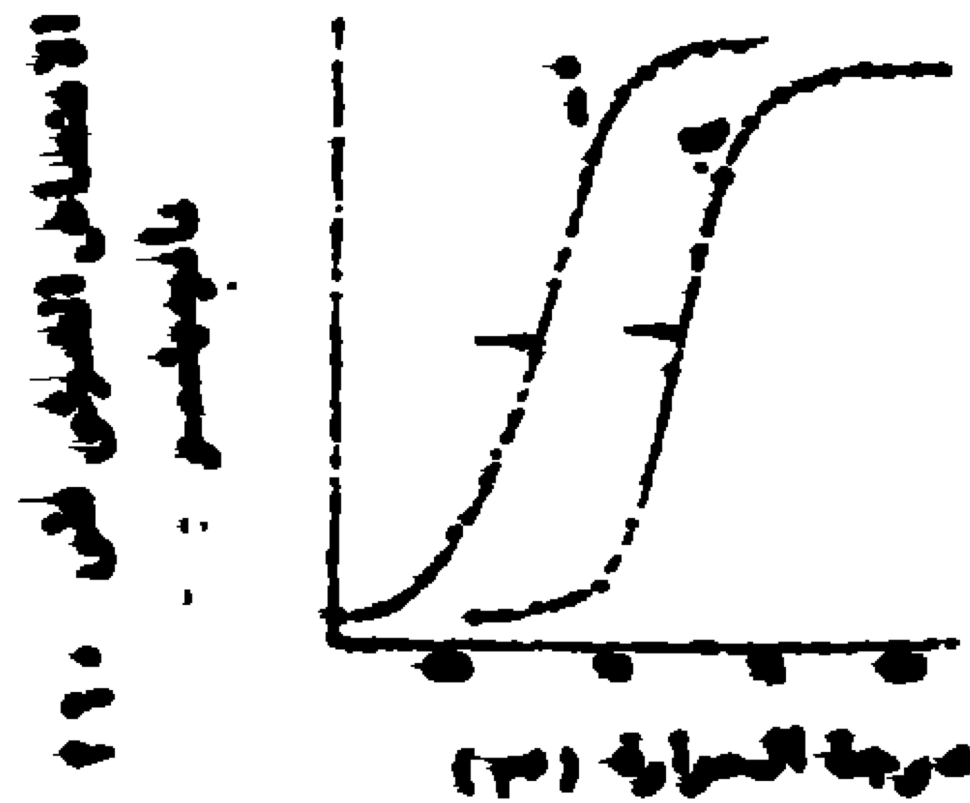
أـ مدى التشابه بين عشرة سلالات من البكتيريا من A الى J قبل ترتيبها .

ب ـ مدى التشابه بين العشرة سلالات من البكتيريا بعد ترتيبها وفقا للتقسيم العددى بحيث تكون السلالات قريبة الشبه من بعضها تكون قريبة من بعضها .

جـ ـ ديندروجرام يوضح علاقة التشابه بين سلالات البكتيريا العشرة . والخطوط المتقطعة توضح مستويات تشابه ممكنة عند مستويات مختلفة (نوع ، جنس مثلا) فى المدرج التقسيمى .

التقسيم على أساس التشابه في الأحماض النووية

يحتوى الحمض النووى د ن أ DNA على القواعد الأربع المعروفة آدنين (A) وثيمين (T) وجوانين (G) وسيتوزين (C) وفى السلسلة المزدوجة لهذا الحمض النووى ترتبط قواعد الجوانين (G) بقواعد السيتوزين (C) برابطة اشتراكية ثلاثية ، وترتبط قواعد الثيمين (T) بقواعد الأدنين (A) برابطة اشتراكية ثنائية ، وعلى ذلك تكون نسبة الجوانين = نسبة السيتوزين فى أى بكتيريا ، كما تكون نسبة الأدنين = نسبة الثيمين . وكذلك فانه كلما زادت نسبة الجوانين + سيتوزين تقل نسبة الأدنين + ثيمين فى الحمض النووى د ن أ لأى بكتيريا. وبمعنى آخر فانه اذا كانت نسبة الجوانين + السيتوزين = ٦٠٪ فان نسبة الأدنين + الثيمين = ٤٠٪ مثلا . . فهذا يعنى أن نسبة كلا من الجوانين والسيتوزين = ٣٠٪ لكل منهما ونسبة كل من الأدنين والسيتوزين = ٢٠٪ لكل منهما . وقد أثبتت الدراسات عند بداية معرفة التركيب الدقيق للأحماض النووية أن الأحياء المختلفة تحتوى على نسب مختلفة من هذه القواعد الأربع ولذلك ظهرت قيمة تقسيمية لتحديد نسبة



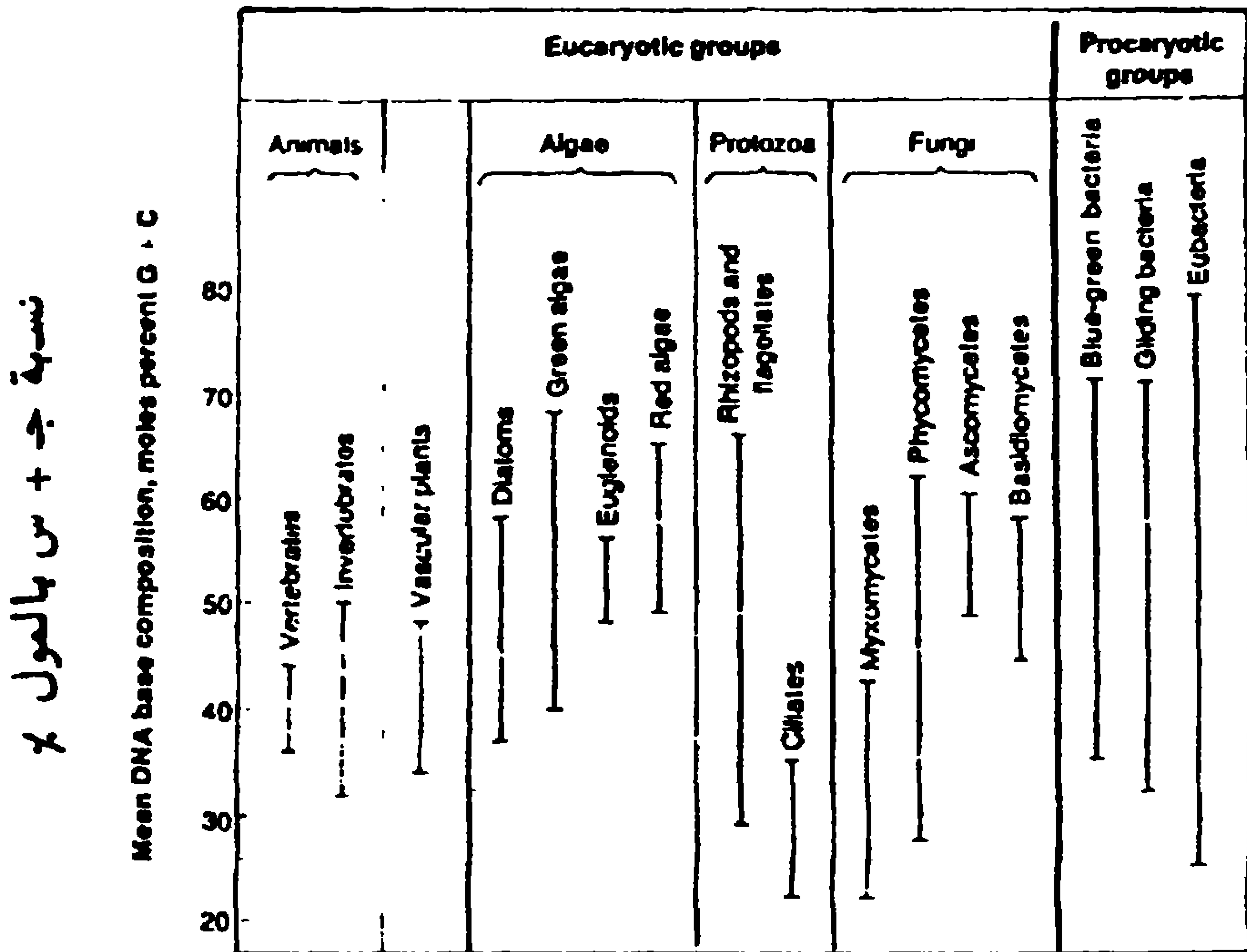
شكل ١٠ـ٣ : منحنيات الانصهار الناتجة عن قياس الامتصاص الضوئى عند ٢٦٠ نانوميتر لعينة د ن أ من :

أ ـ البكتيريا لاكتوباسيلس أسيدوفيلس Lactobacillus acidophilus حيث تكون درجة الانصهار ٦٧٫٧°م .

ب ـ البكتيريا ليبتوسبايرا Leptospira sp. حيث تكون درجة الانصهار ٧٢٫١°م . وتحسب درجة الانصهار من نقطة منتصف منحنى الانصهار عند الأسهم كما هو موضح بالشكل ، وينتج منحنى الانصهار من زيادة الامتصاص الضوئى على ٢٦٠ أنجستروم نتيجة انفصال سلسلتى د ن أ . ودرجة الانصهار تتناسب مع نسبة (G+C) فى د ن أ .

الجوانين + السيتوزين (وهى تقاس بتقدير درجة الانصهار Melting point عادة للحمض النووى د ن أ كما سيلى شرحه فى الفصل الرابع عشر) فى كثير من الحالات (شكل ١٠ـ٣) ٠

والشكل (١٠ـ٤) يوضح المجالات المختلفة لنسبة الجوانين + السيتوزين فى الأحياء الدقيقة حقيقية النواه مقارنة بمثيلتها فى بدائية النواه ٠ وقد ثبت أيضا أن الكثير من الأحياء التى تحتوى على نفس النسب من القواعد المختلفة قد يكون بينها اختلاف كثير ، اذ أن وجود نفس القواعد بترتيب مختلف لا شك ينتج عن أحياء مختلفة ، ولذلك فكر علماء التقسيم فى دراسة مدى تطابق ترتيب القواعد فى الحمض النووى د ن أ ٠



شكل ١٠ـ٤ : مدى نسبة جوانين + سيتوزين (ج+س) فى المجموعات الرئيسية من الأحياء ٠

ويمكن دراسة مدي تطابق ترتيب القواعد النيتروجينية في الحمض النووي د ن أ لأحياء مختلفة بدراسة امكانية تكوين سلاسل مزدوجة Duplex من سلاسل مفردة مأخوذة من أحياء مختلفة. وعلى سبيل المثال يمكن دراسة مدي تطابق ترتيب القواعد النيتروجينية للحمض النووي د ن أ لكلا من الكائنين س، ص باستخلاص د ن أ من كلا من س، ص ثم تنقية هذين التحضيرين منفصلين ثم تعريضهما للحرارة لفصل (صهر) السلاسل المزدوجة. ثم دراسة امكانية تكوين السلاسل المزدوجة بخلط سلاسل مفردة من س وسلاسل مفردة من ص وذلك بالتبريد البطيء، ويدل تكوين نسبة عالية من السلاسل المزدوجة المنتظمة الى شدة الشبه في ترتيب القواعد بين الحمضين النوويين وبالتالى قرب الشبه بين الكائنين س، ص والعكس بالعكس.

وبنفس الطريقة استخدمت أدوات تقسيمية مشابهة لدراسة مدى تقارب كائنات حية دقيقة من بعضها. ومن الأدوات التقسيمية التي استخدمت، ومازال تطبيقها محدودا هى مدى تطابق ترتيب القواعد فى أنواع من الحمض النووى رن أ RNA المختلفة مع مثيلاتها فى كائنات أخرى، وذلك بتكوين سلاسل مزدوجة مع الحمض النووى د ن أ DNA كما استخدم ايضا مدى تطابق ترتيب الأحماض الأمينية فى بروتينات معينة من أحياء مختلفة للدلالة على مدى قرب أو بعد هذه الأحياء من بعضها فى منشأها وتطورها.

وعلى سبيل المثال اذا كان ترتيب الأحماض الأمينية فى انزيم معين، وليكن الانزيم المحلل لسكر اللبن (لاكتيز) المستخلص من الكائن (س) مشابه لذلك المستخلص من الكائن (ص) دل ذلك على درجة كبيرة من القرب بين الكائنين (س)، (ص) ولكن نظرا لصعوبة قياس ترتيب الأحماض الأمينية فكثيرا ما يعتمد على قياس الصفات المصلية (السيريولوجية) لبروتينات مختارة من كائنات مختلفة.

ويجب الاشارة الى أنه لتصنيف أى بكتيريا فلابد من فصلها وتنقيتها، ويتم ذلك اما بالأطباق المصبوبة أو المخطوطة التى سبق الاشارة اليها فى طرق دراسة الأحياء الدقيقة.

مفهوم النوع فى التقسيم

الوحدة التى يتم التعامل معها فى علم التقسيم هى النوع Species. والنوع هو مجتمع من الخلايا الفردية ذات صفات مورفولوجية وفسيولوجية وتركيبية على درجة عالية من التشابه . وقد يصحب ذلك درجة بسيطة من الاختلاف ، ولابد من السماح بنسبة بسيطة من الاختلاف لأن الطفرات تحدث باستمرار وتحدث تغيرات وراثية . ويصبح السؤال الى أى حد يسمح بالاختلاف فى النوع الواحد ؟ ومتى يمكن تقسيم نوع واحد الى نوعين أو أكثر من البكتيريا ؟ . . . وعلى أى حال فكثيرا ما تجمع السلالات Strains المختلفة ذات درجة عالية من التشابه فى نوع Species واحد .

والوضع المثالى لتوصيف النوع Species هو وضع وصف كامل لجميع الصفات الظاهرية Phenotype . ويفضل أن يشمل الوصف جميع الصفات الوراثية Genotype ولكن ذلك نادرا ما يحدث .

ونظرا لأن معظم الصفات الظاهرية Phenotypic characteristics المعروفة هى صفات تركيبية أو تشريحية أو فسيولوجية فهى أكثر الصفات التى تستخدم لتقسيم البكتيريا ونادرا ما تستخدم الصفات الوراثية Genotypic characteristics . وتسمية الأنواع فى البكتيريا تتبع النظم المعروفة فى الكائنات الأخرى والمعروفة بنظام التسمية الثنائى Binomial System of nomenclature فيحمل كل نوع بيولوجى اسم لاتينى مكون من كلمتين . الاسم الأول يشير الى اسم مجموعة تقسيمية أكبر تسمى اسم الجنس Genus وهى الأعلى فى المستوى مباشرة من اسم النوع ، ويكتب الحرف الأول من اسم الجنس كبيرا Capital letter والاسم الثانى وهو اسم النوع Species والذى سبق الاشارة اليه ويكتب كله بحروف صغيرة Small letters . والجنس يشمل عددا من الأنواع ذات صفات متقاربة نوعا ما . والأنواع التابعة لجنس ما تختلف عن أنواع جنس آخر بدرجة مميزة . ويجب ان تكتب الأسماء العلمية بطريقة مميزة عن باقى الكتابة ، فتكتب إما بالحروف المائلة أو يوضع تحت الأسماء العلمية خط تمييزا لها .

وتجمع الأجناس المتشابهة فى عائلة Family وتجمع العائلات

المتشابهة فى رتبة Order وتجمع الرتب المتشابهة فى جزء Part وتجمع الأقسام المتشابهة فى قبيلة Division وتجمع قبيلتى البكتيريا فى مملكة Kingdom واحدة ، وهى بدائية النواه أو ذوات النواه البدائية Kingdom Procaryotae (جميع الأحياء ذات النواه البدائية وكلها تسمى بكتيريا Bacteria) تقسم الى قبيلتين أساسيتين هما :

قبيلة : السيانو بكتيريا Division I: The Cyanobacteria

قبيلة : البكتيريا Division II: The Bacteria

وسنستعرض هنا باختصار السيانوبكتيريا نظرا لقلة الدراسات عليها مقارنة بالبكتيريا .. أما الأخيرة فسنفرد لها بقية هذا الباب.

القبيلة الأولى : السيانوبكتيريا Division I: Cyanobacteria

كانت فى الماضى تسمى الطحالب الخضراء المزرقة Blue green algae ولكن نظرا لعدم احتوائها على نواه حقيقية مماثلة فى ذلك للبكتيريا فقد تم نقلها بصفة نهائية الى مملكة ذوات النواه البدائية Procaryotae وسميت بالبكتيريا الخضراء المزرقة تمييزا لها عن الطحالب ذات النواه الحقيقية . ولقد درست هذه المجموعة من الكائنات فى الماضى أساسا بواسطة علماء الطحالب .

وكان تقسيم هذه المجموعة - فى حالة غير مرضية - معتمدا على الصفات المورفولوجية Morphology وليس ذلك فقط ، بل أن الدراسات المورفولوجية كانت تجرى على عينات مجموعة من الطبيعة دون تنقيتها أو الحصول على مزارع نقية Pure cultures .

وقد بدأ علماء الأحياء الدقيقة حاليا استعمال الطرق المستعملة فى تقسيم البكتيريا لتقسيم البكتيريا الخضراء المزرقة .

وقد وجدت السيانوبكتيريا بكثرة فى الحفريات القديمة . ويعتقد كثير من العلماء أن أول صور الحياة الخلوية على الأرض كانت من السيانوبكتيريا نظرا للبساطة النسبية لتركيب الخلايا وقدرتها الذاتية على التغذية .

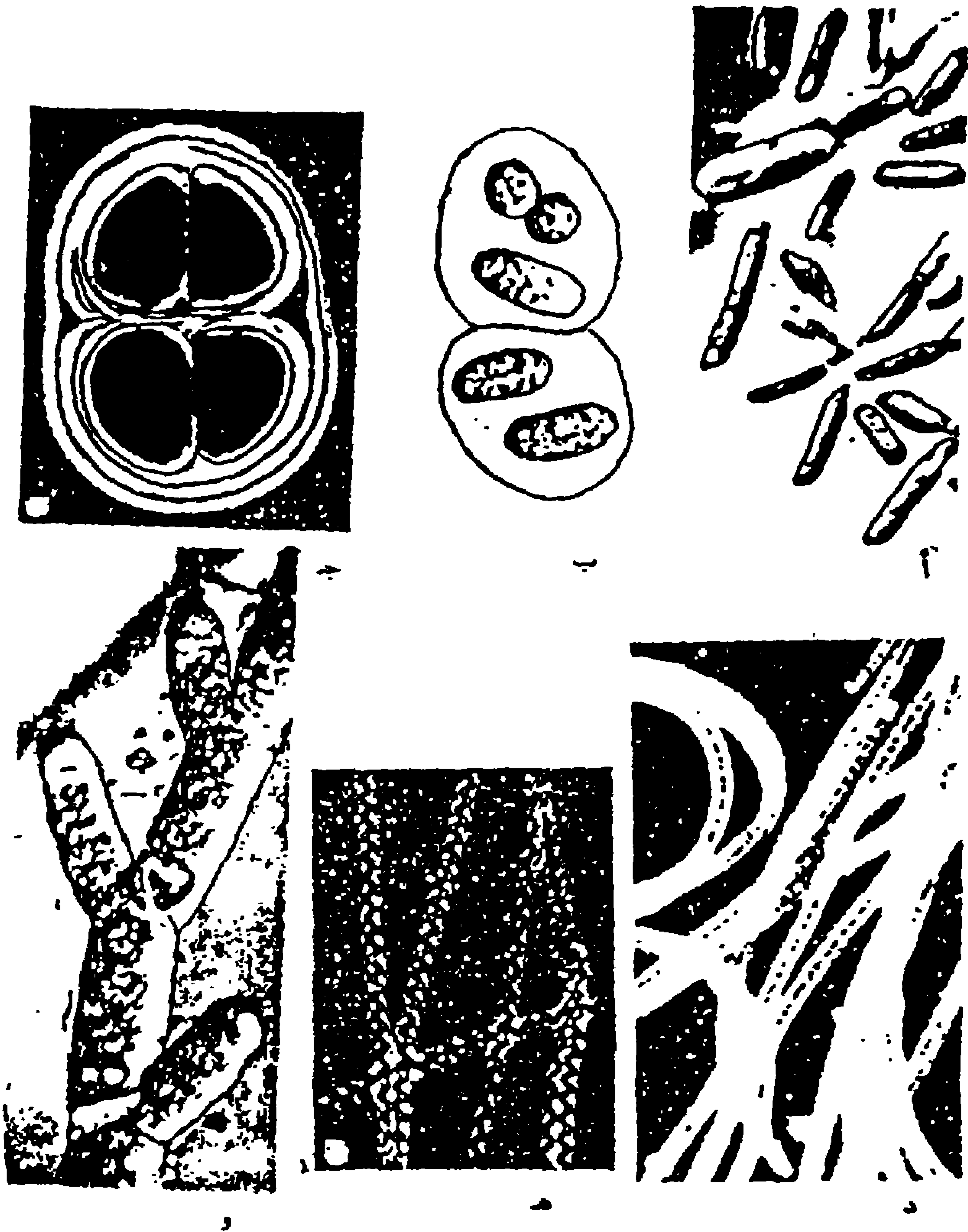
التركيب: Structure

توجد اختلافات مورفولوجية كثيرة بين السيانوبكتيريا (شكل ١٠ــ٥) فمنها ما هو وحيد الخلية أو خيوط متعددة الخلايا ، وتختلف في الحجم من ذلك الحجم المماثل لحجم البكتيريا (٥ر ــ١ ميكروميتر) الى حوالى ٦٠ ميكروميتر في القطر كما في Oscillatoria princeps وخلايا تعتبر أكبر خلايا من ذوات النواه البدائية .

تختلف الأحماض الدهنية في السيانوبكتيريا عن البكتيريا . فالبكتيريا تحتوى غالبا على أحماض دهنية مشبعة ، والأحماض الدهنية غير المشبعة ذات الرابطة الزوجية الواحدة Mono unsaturated fatty acids ولكن السيانوبكتيريا تحتوى أحماض دهنية غير مشبعة ذات رابطتين زوجيتين أو أكثر .

التركيب الدقيق للجدار الخلوى في بعض السيانوبكتيريا يشبه الجدار الخلوى للبكتيريا السالبة لصبغة جرام والتى سبق ذكرها في الفصل التاسع . ولكن عددا كبيرا من السيانوبكتيريا ينتج غلافا Sheath جيلاتينيا لربط مجموعة من الخلايا في صورة خيط أو ربط مجموعة من الخيوط مع بعضها . كما أن الغشاء الخلوى الذى تتم فيه عمليات التمثيل الضوئى يكون غالبا معقدا ذو طبقات متعددة شكل (٩ــ٥) .

وتحتوى السيانوبكتيريا على نوع واحد من الكلوروفيل وهو الكلوروفيل أ ، كما تحتوى كل السيانوبكتيريا على صبغات الفيكوبيلين Phycobilins شكل (١٠ــ٦) وهو يسهم في عمليات التمثيل الضوئى . وأحد أنواع الفيكوبيلين هى صبغات الفيكوسيانين Phycocyanins وهى ذات لون أزرق ، أقصى امتصاص ضوئى لها عند طول موجى ٦٢٥ــ٦٣٠ نانوميتر ، وهذه الصبغات مع كلوروفيل (أ) يكونان اللون الأخضر المزرق للسيانوبكتيريا ، ولكن بعض السيانوبكتيريا تنتج صبغة الفيكوايرثرين Phycoerythrin وهى احدى أنواع الفيكوبيلين وذات لون أحمر وأقصى امتصاص للضوء لها عند طول موجى من ٥٧٠ الى ٥٨٠ نانوميتر ، ومثل هذه البكتيريا تكون ذات لون أحمر أو بنى .



شكل ١٠-٥ : الاختلافات فى الشكل الظاهرى للبكتيريا الخضراء المزرقة..

أ - سينشوكوكس Synechococcus sp. وحيد الخلية.

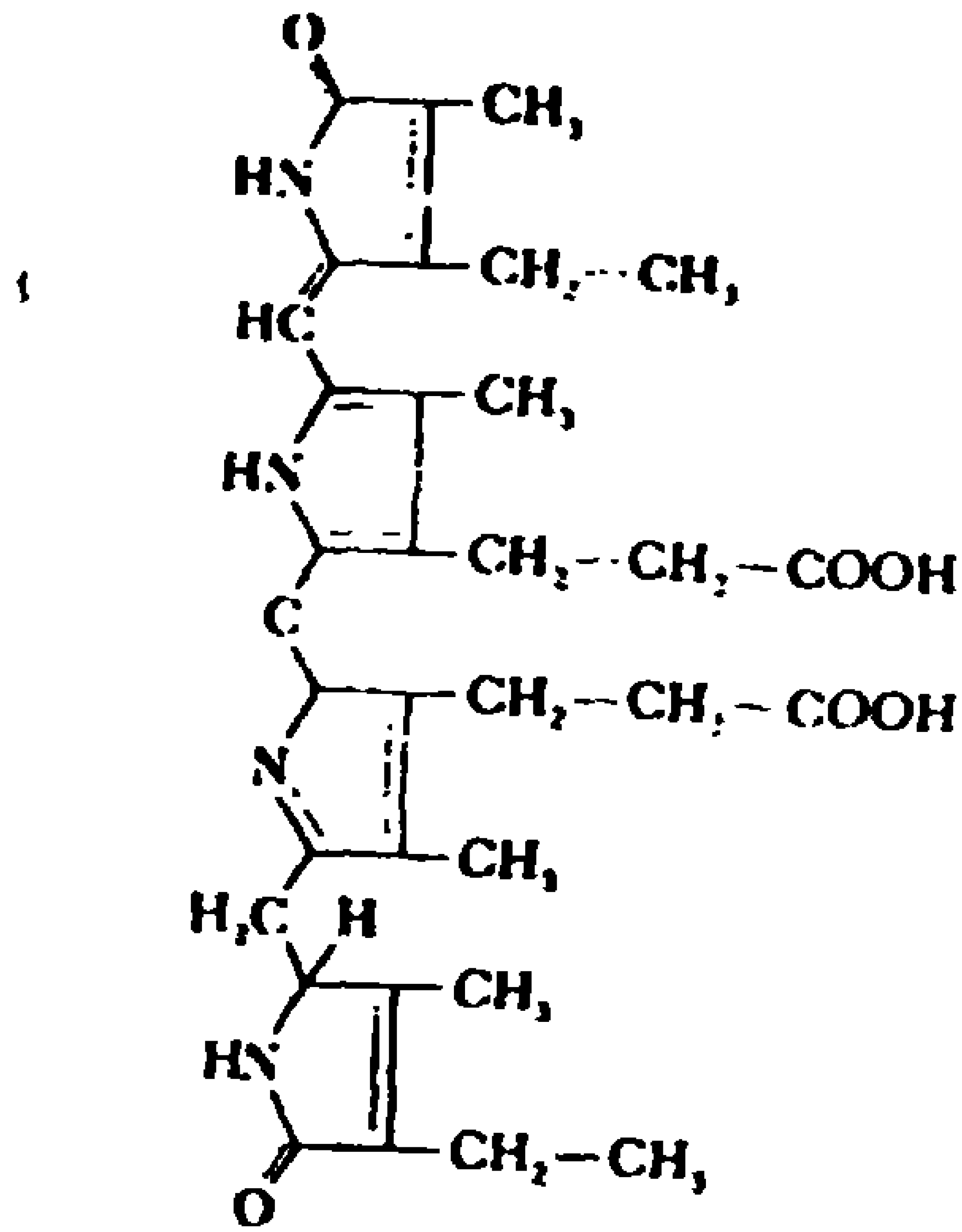
ب - أوسكيلاتوريا Oscillatoria sp. خيطى.

جـ - كرووكوكس Chroococcus sp. مستعمرة وحيد الخلية.

د - جليوكابسا Gloeocapsa sp. مستعمرة وحيد الخلية

هـ - توليبوثريكس Tolypothrix sp. خيطى متفرع.

و - سبايرولينا Spirulina sp. خيطى



شكل ١٠ـ٦ : التركيب البنائى العام للفيكوبيلين وهو عبارة عن سلسلة مفتوحة للتترابيرول Tetrapyrrole . والمركب الموضح هو رمز الفيكوسيانين، وهو عبارة عن صبغة بروتينية توجد فى السيانوبكتيريا والطحالب الحمراء ..

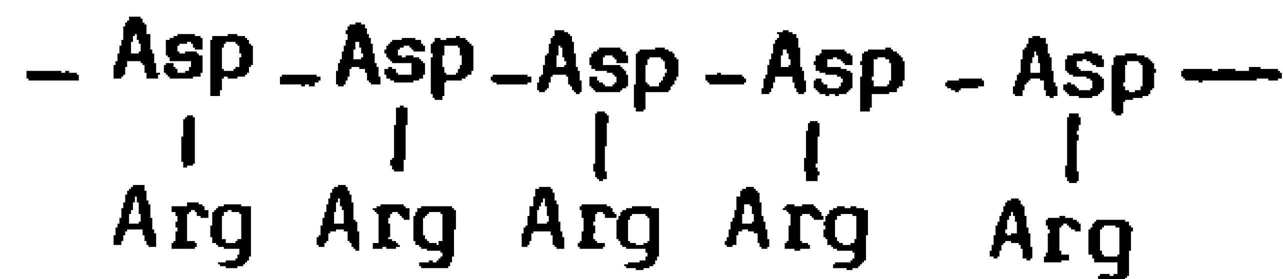
تحتوى كثير من السيانوبكتيريا على فجيوات غازية تسمح لها بالطفو فى الأوساط المائية (شكل ٩ـ٤٠) حتى يمكنها التعرض للضوء للقيام بعمليات التمثيل الضوئى ٠ كما تكون بعض السيانوبكتيريا حويصلات Heter-ocysts شكل (١٠ـ٧) وهى مستديرة مكونة من خلايا تبدو فارغة ، وعادة موزعة على طول الخيوط filaments أو فى نهاية الخيط ٠ والحويصلات hetrocysts تتكون من خلية خضرية عندما تدخل فى حالة كمون Resting ورغم أنه نادرا ما أمكن ملاحظة انباتها ، فان معظم ال Hetrocysts تثبت النيتروجين والحويصلات Hetrocysts تتصل داخليا بالخلايا الخضرية المجاورة لها ، وهنالك تبادل للمواد بينهما ، فتنتقل نواتج التمثيل الضوئى من الخلايا الخضرية الى الحويصلات Hetrocysts بينما



شكل ١٠ـ٧ : الحويصلات التى تكونها السيانوبكتيريا أنابينا Anabaena

تنتقل نواتج تثبيت النيتروجين فى الاتجاه العكسى • حيث تفتقـــــر الحويصلات Hetrocysts الى صبغات التمثيل الضوئى •

ويستطيع عدد كبير من السيانوبكتيريا تخزين النيتروجين فـــى صورة حبيبات سيانوفايسين Cyanophycin التى ترى فى صورة المجهـــر الالكترونى ، وهى سلسلة ببتيدية مكونة من الأحماض الأمينية أسبارتيـــك Asp والأرجنيتين Arg



يتحرك عدد كبير من السيانوبكتيريا بالانزلاق Gliding ولـــم يعثر للأسواط على أثر فى هذه المجموعة من الكائنات ، وقد تكون الحركـة بطيئة أو ســريعة • وتحدث الحـركة فقط عندما تلامس الأنواع المتحركـة سطحا صلبا أو تلامس بعضها البعض ، وتكون الحركة فى معظم الأحيـــان موجـبة فى اتجاه الضوء Phototaxis (وهى الحركة الموجـهة بواسطـة وجود الضوء أو غيابه) كما لوحظت أيضا حركة سالبة نتيجة شدة الاضاءة •

كما أن الحركة الموجهة بالكيميائيات Chemotaxis أيضا قـــد لوحظت فى السيانو بكتيريا •

تتجزأ بعض أفراد السيانوبكتيريا الخيطية لتكوين Hormogonia التى تنزلق لمكان آخر • كما أن بعض السيانوبكتيريا يكون جراثيم Spores كامنة أو أكينتس Akinetes لحماية هذه الأحياء أثناء الظلام أو الجفاف أو التجمد ، وهى عبارة عن خلايا ذات جدار خارجى سميك ، ويمكنها أن تنبت فى الظروف المناسبة لتكوين خيوط مرة ثانية •

فسيولوجيا السيانوبكتيريا :

تتغذى السيانوبكتيريا تغذية بسيطة ، فهى لا تحتاج فيتاميـنات ، وتستخدم أملاح النترات أو الأمونيوم كمصدر للنيتروجين • وتستخـــدم

CO_2 كمصدر للكربون والضوء كمصدر للطاقة . ومعظم السيانوبكتيريا تكون ذاتية التغذية اجبارية ، بمعنى أنها لا يمكنها النمو فى الظلام على مركبات عضوية ، ولكن بعضها يستطيع ذلك علاوة على قدرته على تمثيل الضوء .

تنتج بعض السيانوبكتيريا مادة سامة Neurotoxins ويحدث ذلك عند تلون بعض المستنقعات بلون أخضر مزرق دلالة على نمو بعض أنواع السيانوبكتيريا ، وشرب الماء فى مثل هذه الحالة يعتبر خطرا يجب تجنبه . كما أن بعض السيانوبكتيريا تنتج مادة الجوسمين Goesmin المسئولة عن رائحة التربة ، وعند ذلك تكتسب المياه التى تنمو فيها هذه السيانوبكتيريا رائحة الأرض . وهذه المادة تنتجها بعض البكتيريا الخيطية من نوع الاستربتومايسس Streptomyces .

البيئة :

السيانوبكتيريا منتشرة بكثرة فى الطبيعة فهى توجد فى التربة الرطبة وفى المياه العذبة والمالحة ، وهى أكثر مقاومة للظروف البيئية المتطرفة عن الطحالب ذات النواه الحقيقية Eucaryotic algae وغالبا ما تكون هى الأحياء الممثلة للضوء السائدة فى عيون الماء الساخنة Hot springs . والجدول (٣ـ١) يوضح بالتقريب الحد الأعلى لدرجات الحرارة المناسبة لنمو السيانوبكتيريا مقارنة بالأحياء الدقيقة الأخرى .

(جدول ٣ ـ ١) الحد الأعلى التقريبى من درجات الحرارة لنمو بعض الأحياء الدقيقة

نوع الكائن الحى الدقيق	درجة الحرارة المئوية
البروتوزوا	٤٥ ـ ٥٠
الطحالب ذات النواه الحقيقية	٥٦
الفطريات	٦٠
البكتيريا الممثلة للضوء (+السيانوبكتيريا)	٧٠ ـ ٧٣
البكتيريا	٩٩

وتعيش معظم السيانوبكتيريا معيشة حرة ، والقليل منها يتطفـــل جزئيا على بعض الطحالب ذات النواه الحقيقية .

القبيلة الثانية : البكتيريا Division II: Bacteria

لقد اهتمت الطبعة الثامنة لدليل برجي للتقدير البكتيريولوجـــي ١٩٧٤م Bergey's Manual of Determinative Bacteriology 1974 بتقسيم البكتيريا اهتماما خاصا . وكانت الطبعة الأولى من هذا الكتاب قد ظهر عام ١٩٢٣م . ويعتبر هذا الكتاب هو المرجع الرئيسى لتقسيـــم البكتيريا . ونظرا لأن العلاقات التطورية لهذه الكـائنات غير واضحـــة فان الكتاب قد قسم البكتيريا تسعة عشرة قسما أو عائلة معتمدا بدرجـــة كبيرة على الصفات المورفولوجية ومصدر الطاقة والحركة واحتياجات الاكسجين الجزيئى .

وقد أعطيت الصفات المورفولوجية ـ بما فى ذلك التفاعل لصبغـــة جرام ـ أهمية كبرى فى فصل عدد كبير من مجموعات البكتيريا . ورغـــم أن صبغة جرام لا تعتبر صفة مورفولوجية بدقة ، ولكن نظرا لأن العامليـــن فى هذا الحقل يقدرون التفاعل لصبغة جرام فى نفس الوقت مع الصفـــات المورفولوجية فاننا سنعتبرها أحدها . فقد قسم دليل بيرجى مجموعـــات عديدة من البكتيريا وفقا للصفات المورفولوجية وصبغة جرام كالعصويـــة الموجبة لجرام ـ والكروية الموجبة لجرام ـ والعصوية السالبة لجـــرام ـ والكروية السالبة لجرام ـ والمنحنية أو السالبة لجرام كلها أقسام منفصلة فى التقسيم الجديد .

الجراثيم الداخلية للبكتيريا Bacterial endospores هى تركيـــب وحيد فى صفاته وذو أهمية عملية كبيرة للأحياء التى تكونها ، وقد قسمـــت كل البكتيريا المكونة للجراثيم الداخلية فى قسم مع بعضها . ومجموعة أخـرى كبيرة من البكتيريا تتماثل مورفولوجيا فى قدرتها على تكوين الخيوط أو ـ الكورينى فورم وضعت مع بعضها فى قسم الأكتينومايسيتس Actinomycetes . كذلك فصلت مجموعات أخرى على الأسس المورفولوجية مثل البكتيريا المنزلقة Gliding bacteria وهى مجموعة من البكتيريا العصوية تكون خيوطا

، فقد فصلت في قسم بمفردها ، وكذلك مجموعة البكتيريا المغلفة Sheathed bacteria ، وهى أيضا بكتيريا عصوية تنمو داخل أنبوبة مفرغة تسمى الغلاف Sheath قد وضعت أيضا فى قسم بمفردها ٠٠ ووضعت البكتيريا الحلزونية (صفة مورفولوجية أخرى) كالاسبيروكيتا فى قسم آخر ٠ كما وضعت البكتيريا عديمة الجدار الخلوى (صفة مورفولوجيةأخرى) الميكوبلازما فى قسم آخر ٠ ورغم أن بعض الميكوبلازما ناتجة من بعض البكتيريات الأخرى بفقد الجدار الخلوى ، الا أن بعض الميكوبلازما ذات صفات وحيدة ، لذلك لزم تخصيص قسم منفرد لها مع البكتيريا الأخرى التى لا تكون جدار خلوى ٠ والمجموعة الأخيرة ـ الركيتسيا ـ وضعت فى قسم بمفردها على أساس تطفلها الاجبارى داخل الخلايا الحية ، وهى اما عصوية أو كروية الشكل وتكون جدار خلوى ٠

ونظرا لتعدد البكتيريا وعدم امكانية استعراض جميع الأجناس فى كتاب مثل هذا ـ فسنكتفى فى هذا الباب باستخلاص الأجناس وتبعيتها من كتاب دليل برجى فيما يلى :

KINGDOM. PHOCARYOTAE
Division I The Cyanobacteria
Division II The Bacteria

Part 1: Phototrophic bacteria
Order I. Rhodospirillales
Family I Rhodospirillaceae
Genus I *Rhodospirillum*
Genus II *Rhodopseudomonas*
Genus III *Rhodomicrobium*
Family II Chromatiaceae
Genus I *Chromatium*
Genus II *Thiocystis*
Genus III *Thiosarcina*
Genus IV *Thiospirillum*
Genus V. *Thiocapsa*
Genus VI. *Lamprocystis*
Genus VII *Thiodictyon*
Genus VIII. *Thiopedia*
Genus IX: *Amoebobacter*
Genus X *Ectothiorhodospira*
Family III Chlorobiaceae
Genus I: *Chlorobium*
Genus II: *Prosthecochloris*
Genus III *Chloropseudomonas*
Genus IV. *Pelodictyon*
Genus V: *Clathrochloris*

Part 2: Gliding bacteria
Order I: Myxobacterales
Family I: Myxococcaceae
Genus I: *Myxococcus*
Family II: Archangiaceae
Genus I: *Archangium*
Family III: Cystobacteraceae
Genus I. *Cystobacter*
Genus II: *Melittangium*
Genus III. *Stigmatella*
Family IV Polyangiaceae
Genus I. *Polyangium*
Genus II. *Nannocystis*
Genus III *Chondromyces*
Order II Cytophagales
Family I: Cytophagaceae
Genus I *Cytophaga*
Genus II *Flexibacter*
Genus III *Herpetosiphon*
Genus IV: *Flexithrix*
Genus V. *Saprospira*
Genus VI *Sporocytophaga*
Family II. Beggiatoaceae
Genus I: *Beggiatoa*
Genus II *Vitreoscilla*
Genus III *Thioploca*
Family III: Simonsiellaceae
Genus I: *Simonsiella*
Genus II: *Alysiella*

Family IV: Leucothrichaceae
Genus I: *Leucothrix*
Genus II: *Thiothrix*
Families and genera of uncertain affiliation
Genus: *Toxothrix*
Family: Achromatiaceae
Genus: *Achromatium*
Family: Pelonemataceae
Genus: *Pelonema*
Genus: *Achroonema*
Genus: *Peloploca*
Genus: *Desmanthos*

Part 3: Sheathed bacteria
Genus: *Sphaerotilus*
Genus: *Leptothrix*
Genus: *Streptothrix*
Genus: *Lieskeella*
Genus: *Phragmidiothrix*
Genus: *Crenothrix*
Genus: *Clonothrix*

Part 4: Budding and appendaged bacteria
Genus: *Hyphomicrobium*
Genus: *Hyphomonas*
Genus: *Pedomicrobium*
Genus: *Caulobacter*
Genus: *Asticcacaulis*
Genus: *Ancalomicrobium*
Genus: *Prosthecomicrobium*
Genus: *Thiodendron*
Genus: *Pasteuria*
Genus: *Blastobacter*
Genus: *Seliberia*
Genus: *Gallionella*
Genus: *Nevskia*
Genus: *Planctomyces*
Genus: *Metallogenium*
Genus: *Caulococcus*
Genus: *Kusnezovia*

Part 5: Spirochetes
Order I: Spirochaetales
Family I: Spirochaetaceae
Genus I: *Spirochaeta*
Genus II: *Cristispira*
Genus III: *Treponema*
Genus IV: *Borrelia*
Genus V: *Leptospira*

Part 6: Spiral and curved bacteria
Family I: Spirillaceae
Genus I: *Spirillum*
Genus II: *Campylobacter*
Genera of uncertain affiliation
Genus: *Bdellovibrio*
Genus: *Microcyclus*
Genus: *Pelosigma*
Genus: *Brachyarcus*

Part 7: Gram-negative, aerobic rods and cocci
Family I: Pseudomonadaceae
Genus I: *Pseudomonas*
Genus II: *Xanthomonas*
Genus III: *Zoogloea*
Genus IV: *Gluconobacter*
Family II: Azotobacteraceae
Genus I: *Azotobacter*
Genus II: *Azomonas*
Genus III: *Beijerinckia*
Genus IV: *Derxia*
Family III: Rhizobiaceae
Genus I: *Rhizobium*
Genus II: *Agrobacterium*
Family IV. Methylomonadaceae
Genus I: *Methylomonas*
Genus II: *Methylococcus*
Family V: Halobacteriaceae
Genus I: *Halobacterium*
Genus II: *Halococcus*
Genera of uncertain affiliation
Genus: *Alcaligenes*
Genus: *Acetobacter*
Genus: *Brucella*
Genus: *Bordetella*
Genus: *Francisella*
Genus: *Thermus*

Part 8: Gram-negative, facultatively anaerobic rods
Family I: Enterobacteriaceae
Genus I: *Escherichia*
Genus II: *Edwardsiella*
Genus III: *Citrobacter*
Genus IV: *Salmonella*
Genus V: *Shigella*
Genus VI: *Klebsiella*
Genus VII: *Enterobacter*
Genus VIII *Hafnia*
Genus IX: *Serratia*
Genus X: *Proteus*
Genus XI: *Yersinia*
Genus XII: *Erwinia*
Family II. Vibrionaceae
Genus I *Vibrio*
Genus II: *Aeromonas*
Genus III: *Plesiomonas*
Genus IV *Photobacterium*
Genus V: *Lucibacterium*
Genera of uncertain affiliation
Genus: *Zymomonas*
Genus *Chromobacterium*

Genus. *Flavobacterium*
Genus: *Haemophilus*
Genus. *Pasteurella*
Genus: *Actinobacillus*
Genus *Cardiobacterium*
Genus. *Streptobacillus*
Genus: *Calymmatobacterium*
Parasites of *Paramecium*

Part 9: Gram-negative, anaerobic bacteria
Family I: Bacteroidaceae
Genus I: *Bacteroides*
Genus II: *Fusobacterium*
Genus III: *Leptotrichia*
Genera of uncertain affiliation
Genus: *Desulfovibrio*
Genus: *Butyrivibrio*
Genus: *Succinovibrio*
Genus: *Succinomonas*
Genus: *Lachnospira*
Genus: *Selenomonas*

Part 10: Gram-negative cocci and coccobacilli (aerobes)
Family I: Neisseriaceae
Genus I: *Neisseria*
Genus II: *Branhamella*
Genus III: *Moraxella*
Genus IV: *Acinetobacter*
Genera of uncertain affiliation
Genus: *Paracoccus*
Genus: *Lampropedia*

Part 11: Gram-negative cocci (anaerobes)
Family I: Veillonellaceae
Genus I: *Veillonella*
Genus II: *Acidaminococcus*
Genus III: *Megasphaera*

Part 12: Gram-negative, chemolithotrophic bacteria
a: Organisms oxidizing ammonia or nitrite
Family I: Nitrobacteraceae
Genus I: *Nitrobacter*
Genus II: *Nitrospina*
Genus III: *Nitrococcus*
Genus IV: *Nitrosomonas*
Genus V: *Nitrosospira*
Genus VI: *Nitrosococcus*
Genus VII: *Nitrosolobus*
b. Organisms metabolizing sulfur
Genus: *Thiobacillus*
Genus: *Sulfolobus*
Genus: *Thiobacterium*
Genus: *Macromonas*
Genus: *Thiovulum*
Genus: *Thiospira*
c. Organisms depositing iron or manganese oxides
Family I: Siderocapsaceae
Genus I: *Siderocapsa*
Genus II: *Naumaniella*
Genus III: *Ochrobium*
Genus IV: *Siderococcus*

Part 13: Methane-producing bacteria
Family I: Methanobacteriaceae
Genus I: *Methanobacterium*
Genus II: *Methanosarcina*
Genus III: *Methanococcus*

Part 14: Gram-positive cocci
a. Aerobic and/or facultatively anaerobic
Family I: Micrococcaceae
Genus I: *Micrococcus*
Genus II: *Staphylococcus*
Genus III: *Planococcus*
Family II: Streptococcaceae
Genus I: *Streptococcus*
Genus II: *Leuconostoc*
Genus III: *Pediococcus*
Genus IV: *Aerococcus*
Genus V: *Gemella*
b. Anaerobic
Family III: Peptococcaceae
Genus I: *Peptococcus*
Genus II: *Peptostreptococcus*
Genus III: *Ruminococcus*
Genus IV: *Sarcina*

Part 15: Endospore-forming rods and cocci
Family I: Bacillaceae
Genus I. *Bacillus*
Genus II: *Sporolactobacillus*
Genus III: *Clostridium*
Genus IV: *Desulfotomaculum*
Genus V: *Sporosarcina*
Genus of uncertain affiliation
Genus: *Oscillospira*

Part 16: Gram-positive, nonsporing, rod-shaped bacteria
Family I: Lactobacillaceae
Genus I: *Lactobacillus*
Genera of uncertain affiliation
Genus: *Listeria*
Genus: *Erysipelothrix*
Genus: Caryophanon

Part 17: Actinomyces and related organisms

Coryneform group of bacteria
Genus I: *Corynebacterium*
a. Human and animal pathogens
b. Plant-pathogenic corynebacteria
c. Nonpathogenic corynebacteria
Genus II: *Arthrobacter*
Genera incertae sedis
(Brevibacterium)
(Microbacterium)
Genus III: *Cellulomonas*
Genus IV. *Kurthia*
Family I: Propionibacteriaceae
Genus I: *Propionibacterium*
Genus II: *Eubacterium*
Order I: Actinomycetales
Family I: Actinomycetaceae
Genus I: *Actinomyces*
Genus II. *Arachnia*
Genus III: *Bifidobacterium*
Genus IV *Bacterionema*
Genus V: *Rothia*
Family II: Mycobacteriaceae
Genus I: *Mycobacterium*
Family III: Frankiaceae
Genus I: *Frankia*
Family IV: Actinoplanaceae
Genus I. *Actinoplanes*
Genus II: *Spirillospora*
Genus III. *Streptosporangium*
Genus IV: *Amphosporangium*
Genus V: *Ampullariella*
Genus VI: *Pilimelia*
Genus VII: *Planomonospora*
Genus VIII: *Planobispora*
Genus IX: *Dactylosporangium*
Genus X. *Kitasatoa*
Family V: Dermatophilaceae
Genus I: *Dermatophilus*
Genus II: *Geodermatophilus*

Family VI Nocardiaceae
Genus I. *Nocardia*
Genus II: *Pseudonocardia*
Family VII: Streptomycetaceae
Genus I: *Streptomyces*
Genus II: *Streptoverticillium*
Genus III: *Sporichthya*
Genus IV: *Microellobosporia*
Family VIII: Micromonosporaceae
Genus I: *Micromonospora*
Genus II: *Thermoactinomyces*
Genus III *Actinobifida*
Genus IV: *Thermomonospora*
Genus V: *Microbiospora*
Genus VI: *Micropolyspora*

Part 18: The Rickettsias

Order I: Rickettsiales
Family I: Rickettsiaceae
Tribe I: Rickettsieae
Genus I: *Rickettsia*
Genus II: *Rochalimea*
Genus III. *Coxiella*
Tribe II. Ehrlichieae
Genus IV: *Ehrlichia*
Genus V. *Cowdria*
Genus VI: *Neorickettsia*
Tribe III: Wolbachieae
Genus VII: *Wolbachia*
Genus VIII: *Symbiotes*
Genus IX: *Blattabacterium*
Genus X. *Rickettsiella*
Family II: Bartonellaceae
Genus I: *Bartonella*
Genus II: *Grahamella*
Family III: Anaplasmataceae
Genus I: *Anaplasma*
Genus II: *Paranaplasma*
Genus III: *Aegyptionella*
Genus IV: *Haemobartonella*
Genus V: *Eperythrozoon*
Order II: Chlamydiales
Family I: Chlamydiaceae
Genus I: *Chlamydia*

Part 19: The Mycoplasmas
Class I: Mollicutes

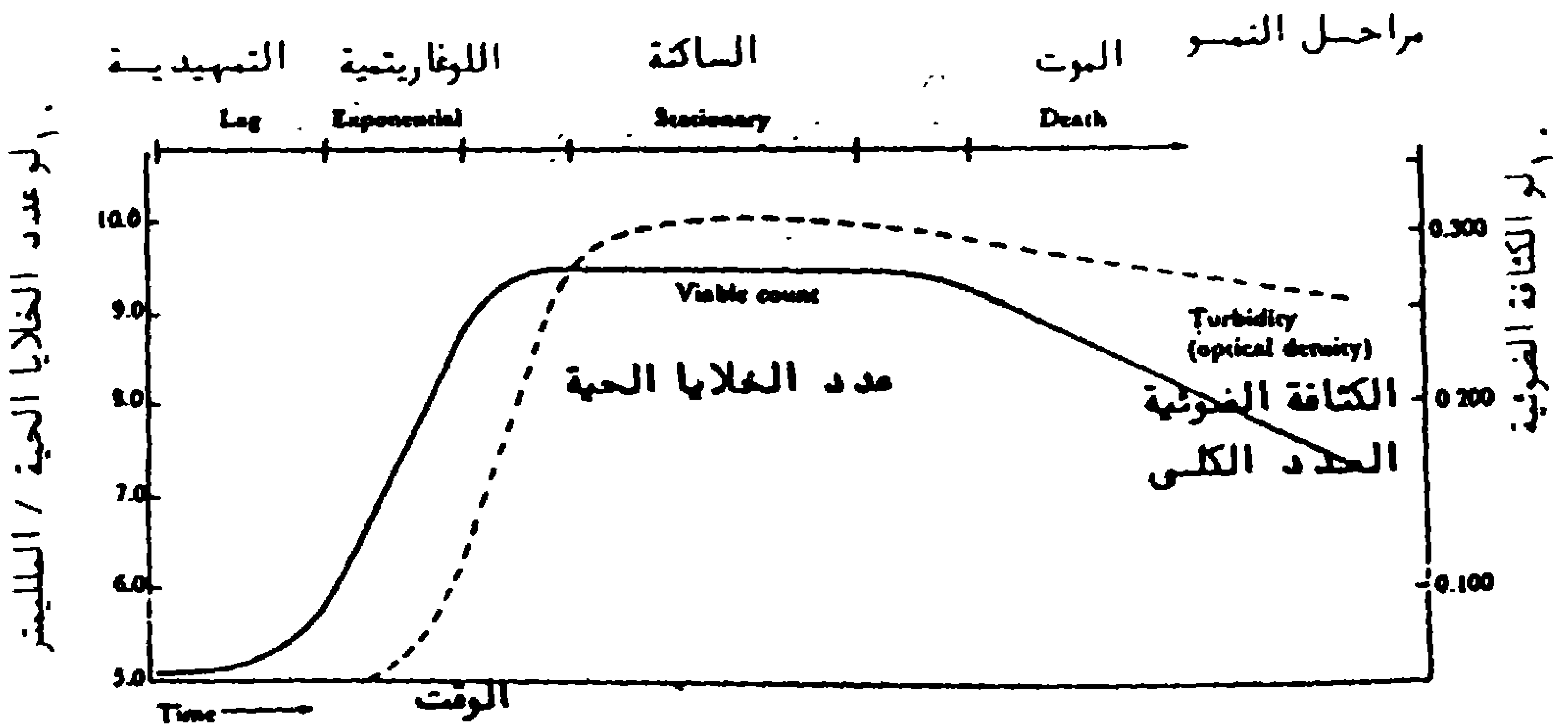
Order I: Mycoplasmatales
Family I: Mycoplasmataceae
Genus I: *Mycoplasma*
Family II: Acholeplasmataceae
Genus I: *Acholeplasma*
Genus of uncertain affiliation
Genus: *Thermoplasma*
Mycoplasmalike bodies in plants

الباب الرابع

النمو والتكاثر في الأحياء الدقيقة الخلوية وكيفية التحكم فيه

الفصل الحادي عشر : نمو وتكاثر الأحياء الدقيقة الخلوية..

الفصل الثاني عشر : العوامل التي تؤثر على نمو ونشاط الأحياء الدقيقة الخلوية وأهميتها..



الفصل الحادى عشر

نمو وتكاثر الأحياء الدقيقة الخلوية

يعرف النمو على أنه زيادة متناسقة فى جميع المكونات والتركيبات الخلوية. ولا يمكن اعتبار الزيادة فى الوزن فقط دليلا كافيا على النمو، لأن الزيادة فى الوزن قد تكون نتيجة زيادة فى المواد المخزنة مثل الجليكوجين أو عديد البيتاهيدروكسبيوترات Poly hydroxy butyrate ولكن المقصود بالنمو هو النمو المتزن Balanced growth والناتج عن زيادة جميع مكونات الخلية بنفس النسبة، بحيث أنه عندما يتضاعف وزن الخلية لابد وأن تتضاعف مكونات الخلية من البروتين ومن الحمض النووى رن أ RNA والحمض النووى د ن أ DNA وغيرها من المكونات.

واذا حدث النمو فى غياب انقسام الخلية فان ذلك يؤدى الى زيادة فى حجم الخلية ووزنها. ولكن فى معظم الخلايا يكون النمو متبوعا بانقسام، وهى عملية دورية Cyclical مستمرة تؤدى الى زيادة عدد الخلايا، والخلايا الجديدة تنمو فى الحجم لتبلغ حجم الخلايا الأصلية فى وقت قصير ثم تنقسم ... وهكذا..

ومن المفيد التمييز بين نمو الخلايا الفردية ونمو مجتمع من الخلايا. فنمو الخلية ينتج عنه عادة زيادة فى الحجم والوزن فيما قبل انقسام الخلية. أما نمو المجتمع فينتج عنه زيادة عدد الخلايا كنتيجة لنمو الخلايا وانقسامها.

ولكن نظرا لصغر حجم خلايا الكائنات الدقيقة فان دراسة نمو وتكاثر خلايا الأحياء الدقيقة منفردة صعب الى حد ما، وتجرى معظم دراسات النمو فى الكائنات الدقيقة على مجتمعات من الخلايا. وكما سبق ان ذكرنا بالنسبة للخلية فان النمو المتزن للمجتمع تكون زيادة الوزن فيه متزامنة بزيادة متناسبة فى المكونات الخلوية المختلفة للمجتمع مثل البروتين أو الأحماض النووية أو الماء الخلوى ... الخ.

ولذلك.. فعندما تنمو مزرعة نموا متزنا فانه يمكن قياس التغيير فى أى من مكونات الخلية بالنسبة للزمن كدليل على معدل النمو.

أولاً : نمو وتكاثر الخلايا المنفردة :

Growth and reproduction of individual cell

ان نمو خلايا الكائنات الدقيقة ، ثم انقسامها هى عملية دورية - كما سبق الاشارة اليه - فالخلايا الصغيرة الناتجة عن الانقسام تمتص الغذاء من الوسط المحيط بها (فى الأحياء التى تمتص الغذاء Osmot - rophic) أو تلتهمه (فى الأحياء الدقيقة الملتهمة Phagotrophic) .

وقد سبق الاشارة الى ظاهرة الالتهام فى البروتوزوا . أما امتصاص الغذاء فسنتعرض له بالتفصيل بعد قليل . بعد دخول الغذاء الى الخلية يتم هضمه للحصول على الطاقة ووحدات بناء مكونات الخلية المختلفة ، وهى العمليات التى يطلق عليها " التمثيل الغذائى " أو " التفاعلات الأيضية " Metabolic activities وتستطيع بعض الأحياء الدقيقة الحصول على الطاقة من ضوء الشمس ، بينما يستطيع البعض الآخر الحصول على الطاقة من أكسدة المواد غير العضوية ... أو المواد العضوية .. وتسفر عمليات هدم الغذاء وبناء مكونات الخلية الى زيادة وزن الخلية وحجمها قبل انقسامها . وسنشرح بالتفصيل خطوات النمو فى الخلية بعد عرض امتصاص الغذاء بواسطة الأحياء الدقيقة .

امتصاص الغذاء :

ان تركيز المواد المذابة فى السيتوبلازم داخل الخلية يكون عادة أكبر من تركيز المواد الذائبة خارج الخلية ، سواء فى البيئات الطبيعية أو المستنبتات المعملية لتلك الأحياء الدقيقة ، علاوة على اختلاف المواد الذائبة داخل الخلية عن تلك لموجودة خارج الخلية . والحاجز الأساسى الذى يتحكم فى مرور المواد الذائبة من أو الى داخل الخلية هو الغشاء الخلوى Cell membrane الذى سبق الاشارة الى تركيبه المعقد المكون من الفوسفوليبيدات والبروتينات والجليكوبروتينات Glucoproteins.
وقد تم الاشارة أيضا - الى أن البكتيريا السالبة لصبغة جرام تحتوى على

غشاء خارجي Outer membrane شبيه بالغشاء الخلوى يلعب دورا محددا في مرور جزيئات معينة من وإلى الخلية • كما تحتوى البكتيريا السالبة لصبغة جرام - أيضا - على فراغ بين الغشاء الخلوى وطبقات الجدار الخلوى يسمى الفراغ البيربلازمى Periplasmic space ذو تركيب يختلف عن داخل الخلية ، وذو تركيب يختلف أيضا عن الوسط الخارجي للخلية •

أما بالنسبة لمرور الجزيئات المختلفة ، فإن الغشاء الخلوى يؤدى الى عدة وظائف وهى :

١) الاحتفاظ بالمركبات الوسطية فى مسارات البناء Pathways المختلفة والجزيئات الكبيرة Macro-molecules داخل الخلية •
٢) يعمل على ضخ العناصر الغذائية الى داخل الخلية حتى فى حالة وجودها خارج الخلية بتركيز أقل من تركيزها داخل الخلية •
٣) يسمح لبعض العناصر الغذائية بالمرور بحرية من وإلى داخل الخلية •
٤) يمنع دخول بعض المواد الذائبة من الدخول الى الخلية •

ورغم أن تركيب الغشاء الخلوى من طبقة مزدوجة من الفوسفوليبيدات ، فان له القدرة على السماح بمرور المركبات القطبية Polar فى أجزاء خاصة منه ، وتعرف هذه الأجزاء باسم جهاز النقل الغشائى Membrane transport .

دخول العناصر الغذائية الى الخلية :

يحدث النقل الغشائى للعناصر المغذية خلال الغشاء الخلوى بعدد من الطرق وهى :

١ - الانتشار الانسيابى أو البسيط Simple or passive diffusion

وفيه تنساب المواد من الوسط الأكثر تركيزا الى الوسط الأقل تركيزا خلال الغشاء الخلوى • وتتوقف سرعة هذا الانتشار على مدى الفرق فى

التركيز بين الوسطين ٠

ووجود مثل هذا النوع من النقل الغشائى حدى ببعض العلماء الى الاعتقاد بوجود أماكن فى الغشاء الخلوى تسمح بحرية الحركة لبعض العناصر الغذائية والماء هو العنصر الغذائى الأساسى ينتقل الى داخل أو خارج الخلية بالانتشار الانسيابى ٠

٢ـ الانتشار المدعم : Facilitated diffusion

يشبه هذا النوع من النقل (النقل المدعم) سابقه (النقل الانسيابى) فى أن انتقال الجزيئات يتم أيضا من الوسط الأعلى فى التركيز الى الوسط الأقل فى التركيز ، وبذلك لا يحتاج دخول المواد الى الخلية الى بذل طاقة ، ويختلف عنه فى أن النقل المدعم يتم بواسطة ناقلات بروتينية خاصة (عوامل مساعدة تشبه الانزيمات التى تساعد فى التفاعلات الحيوية المختلفة) تسمى بيرمييزات Permeases ويمكن ايضاح مثل هذا التفاعل الانزيمى كما يلى :

مادة مغذية (خارج الخلية) $\xrightarrow{\text{permease}}$ مادة مغذية (داخل الخلية)

وهذه الناقلات البروتينية (انزيمات الادخال) ذات درجه عالية من التخصص ٠٠ فكل نوع من هذه البروتينات يستطيع نقل جزيئات محددة فقط ٠ وهى تستطيع عبور الغشاء الخلوى سواء أكانت مرتبطة بالجزيئات المنقولة أو حرة منها ٠

ومعدل دخول المواد بالانتشار المدعم أسرع كثيرا من الانتشار الانسيابى خاصة عندما تكون التركيزات منخفضة ٠ أما اذا زاد تركيزالمادة المغذية خارج الخلية فان سرعة التفاعل تتحدد وفقا لقوانين ميكيلس منتن Michaelis-Menten الخاصة بتشبع الانزيمات ، حيث يحسب معدل دخول المواد من معادلة ميكيلس كالآتى :

$$V^{entry} = V^{entry}_{max} \frac{(S)_{ex}}{Km^{entry} + (S)_{ex}}$$

ويحسب معدل الخروج للمادة من نفس المعادلة كالآتى :

$$V^{exit} = V^{exit}_{max} \frac{(S)_{in}}{Km^{exit} + (S)_{in}}$$

حيث تكون $(S)_{ex}$ و $(S)_{in}$ هى تركيز المادة الغذائية خارج وداخل الخلية على التوالى V^{ex}_{max} و V^{in}_{max} هى أعلى سرعة خروج ودخول للمادة الغذائية والتى يكون فيها الانزيم مشبعا تماما بالمادة الغذائية. Km^{entry} و Km^{exit} هى ثابت ميكيليس Michaelis constant (للخروج والدخول وهما متساويان)· وكنتيجة لذلك فان عند الاتزان يكون معدل دخول المادة الغذائية ومعدل خروجها من الخلية متساويا ·

وبالرغم من هذه الوسيلة فى النقل (الانتشار المدعم) غير شائعة فى الأحياء الدقيقة ذات النواه البدائية (البكتيريا) · والمركب الوحيد الذى ينقل الى داخل خلية البكتيريا بالانتشار المدعم هو الجليسرول · أما الطريقة الشائعة للنقل فى الأحياء الدقيقة ذات النواة البدائية (البكتيريا) فهى النقل النشط والتى نوردها فيما يلى :

٣ـ النقل النشط : Active transport

ان ميكانيكية النقل النشط تشمل دخول عناصر مغذية من تركيز منخفض خارج الخلية الى تركيز أعلى داخل الخلية · ونتيجة لذلك فان هذه الطريقة فى النقل تؤدي الى تكوين تركيزات أعلى آلاف المرات داخل الخلايا عنها فى خارج الخلايا · وترجع أهمية هذا النوع من النقل للبكتيريا ــ بصفة خاصة ــ الى سرعة نمو وتكاثر البكتيريا حتى فى البيئات المنخفضة التركيز · لذلك فالنقل النشط يتيح للبكتيريا النمو والتكاثر بسرعة حتى فى البيئات المنخفضة ، ونتيجة لأن المواد الغذائية تنتقل من تركيز منخفض الى

تركيز أعلى فانه من الضرورى أن تبذل طاقة energy وهذا ما يحدث فعلا ، الا أن ميكانيكية فقد الطاقة المصاحب لدخول المواد بواسطة النقل النشط مازالت غير معروفة حتى الآن ٠

وعلى سبيل المثال ٠٠ نجد أن نظام النقل النشط للسكر الثنائى لاكتوز Lactose وهو يسمى نظام ادخال البيتاجلكتوسيد β-galactoside permease system يقوم بنقل اللاكتوز لتركيزه داخل بكتيريا القولون E. coli حتى لو وجد فى خارج الخلية بتركيز منخفض ، وينتج عن ذلك بذل كمية من الطاقة ٠ وتستخدم الطاقة فى تقليل ارتباط affinity البيرمييز Permease للاكتوز داخل الخلية مقارنة بارتباط اللاكتوز للبيرمييز خارج الخلية ٠ وكنتيجة لذلك تصبح Km^{exit} اكبر من Km^{entry} وتصبح سرعة الخروج أقل من سرعة الدخول (أنظر المعادلتين السابقتين) وعند الاتزان تصبح $(S)_{in}$ اكبر من $(S)_{ex}$ ٠

واذا أوقف انتاج الطاقة فى الخلية باضافة مادة سامة مثل آزيد الصوديوم Sodium Azide فان البيتاجلكوسيد بيرمييز β-galactoside Permease لن ينقل اللاكتوز بنظام النقل النشط ، ولكن ينقله فقط بنظام النقل المدعم ٠٠ حيث يكون ارتباط الانزيم باللاكتوز متساويا على وجهى الغشاء ، وعند الاتزان يصبح معدل الدخول مساويا لمعدل الخروج ٠

وقد تم عزل هذا البيرمييز - بصفة خاصة - من بكتيريا القولون بواسطة معاملة الخلايا ببعض المنظفات الصناعية ويسمى بروتين M Protein والجين Gene المسئول عن انتاج هذا البروتين هو Lac Y ٠ وبعض الطفرات فى هذا الجين تؤدى الى عدم انتاج بيرمييز جيد وبالتالى لا تستطيع الخلية ادخال اللاكتوز الى داخل الخلية حتى وان وجدت الانزيمات المحللة له بالداخل ، وتسمى مثل هذه الطفرات بالطفرات العاجزة Cryptic ومثل هذه الطفرات شائعة فى الطبيعة ٠

٤ـ بروتينات الارتباط Binding Proteins

ان عددا من أنظمة النقل النشط Active transport في البكتيريا السالبة لصبغة جرام يكون متعلقا بما يعرف " بروتينات الارتباط Binding Proteins" والتي توجد في الحيز البيريبلازمي Periplasmic space. والحيز البيريبلازمي هو الحيز الموجود بين الغشاء الخلوي وطبقات الجدار الخلوي الخارجية.

ويمكن فصل بروتينات الارتباط هذه من الخلايا بمعاملة تسمى " صدمة البرودة الأسموزية " Cold osmotic shock وهي عبارة عن خفض مفاجيء للقوة الأسموزية للسائل المعلقة فيه الخلايا على درجة حرارة منخفضة. وتؤدي هذه المعاملة الى تحطيم الغشاء الخارجي للجدار الخلوي ، وتنتج عن ذلك تحرير البروتينات الموجودة في الحيزالبيريبلازمي في المحلول الخارجي ، وهي تشمل بروتينات الارتباط ، وهي ذات قدرة عالية للارتباط High affinity لعناصر مغذية معينة ، وقد تم فصل أكثر من ١٠٠ بروتين ارتباط مختلف ودراستها. وهذه البروتينات ليس لها نشاط انزيمي ولكنها تكون مركبات معقدة مع عناصر مغذية خاصة بما في ذلك الأحماض الأمينية والسكريات والأيونات غير العضوية.

وبروتينات الارتباط أساسية في النقل النشط للعناصر المغذية التي ترتبط بها. ويبدو ذلك واضحا من الطفرات التي تفقد القدرة على تكوين بروتين ارتباط معين. فان مثل هذه الطفرات تفقد القدرة على تركيز العنصر الغذائي ـ القابل للارتباط بهذا البروتين ـ داخل الخلية.

كما أن بروتينات الارتباط ليست بيرمييزات Permeases نظرا لأنها غير مرتبطة بالغشاء الخلوي ، ولكنها توجد ذائبة في الماء في الحيز البيريبلازمي. كما أن بروتينات الارتباط هذه تؤدي وظيفتها في تكامل مع بير ميزات Permeases خاصة في الغشاء الخلوي وتكوين طفرة تؤدي الى فقد بروتين الارتباط أو البيرمييز Permease تؤدي الى تكوين طفرة

عاجزة Cryptic mutant.

٥ـ النقل المصحوب بالتغيير الكيميائى : Group translocation

ان عملية النقل النشط تشمل نقل عناصر مغذية من وسط أقـــل تركيزا خارج الخلية الى وسط أكثر تركيزا داخل الخلية دون احداث أى تغيير كيميائى فى المادة المنقولة .

بعض أنواع البكتيريا تحتوى ـ علاوه على النقل النشط ـ نظاما آخر للنقل يشمل احداث تغيير كيميائى فى المادة أثناء نقلها عبر الغشـاء ، ويسمى هذا النظام " بنظام النقل المصحوب بالتغيير الكيميائى Group translocation وهذا النظام لا يعتبر نظام نقل نشط ، حيث أن تركيـز المادة التى لم يحدث عليها تغيير كيميائى يظل منخفضا داخل الخليـة دائما .

ولكن النظام يشبه أنظمة النقل النشط حيث أن المادة الكيميائيـة المعدلة التى تتراكم داخل الخلية يصبح أكبر بكثير من تركيز المادة غيـر المعدلة خارج الخلية . وكمثال على النقل المصحوب بالتغيير الكيميائـى نظام الفوسفوترانسفريز Phosphotransferase فهذا البروتين يعمـل على نقل عدد من السكريات ومشتقاتها من خارج الخلية . وعندما تصـل هذه السكريات الى داخل الخلية تصبح سكريات مفسفرة Phosphor-ylated sugars .

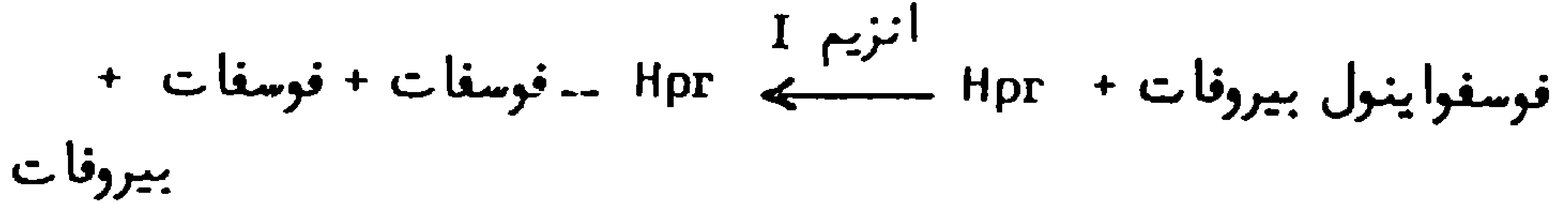
وتحدث عملية الفسفرة أثناء النقل . وحيث أن الغشاء الخلـوى غير منفذ للمركبات المفسفرة فان هذه السكريات المفسفرة تحتجز داخـل الخلية ولا تخرج منها .

ويتكون نظام النقل المصحوب بالتغيير الكيميائى من مجموعتين :

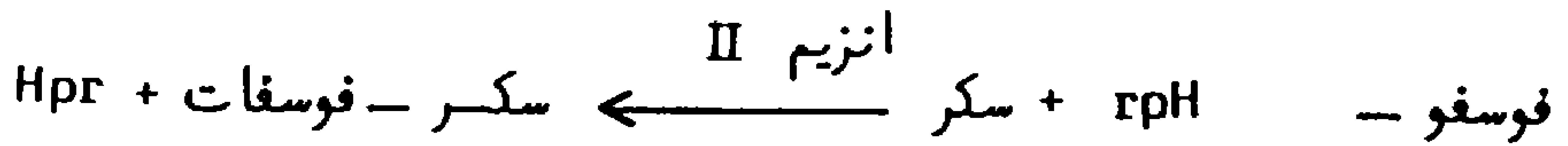
أـ المكونات غير المتخصصة Non-specific components وهى تشمـل Enzymes I وبروتين آخر غنى فى الهستدين يسمى Hpr . يستقبـل مجموعة الفوسفات الغنية فى الطاقة من الفوسفواينول بيروفـات

ليكون Hpr ذو مجموعة فوسفات غنية في الطاقة ·

ب ـ المكونات المتخصصة للمواد الغذائية المنقولة : وهى عبارة عن بروتينات مرتبطة بالغشاء الخلوى تسمى انزيمات Enzymes II تؤدى الى فسفرة السكر أثناء نقله بواسطة البروتين Hpr ذو ـ مجموعة الفوسفات الغنية فى الطاقة كما فى المعادلات التالية :

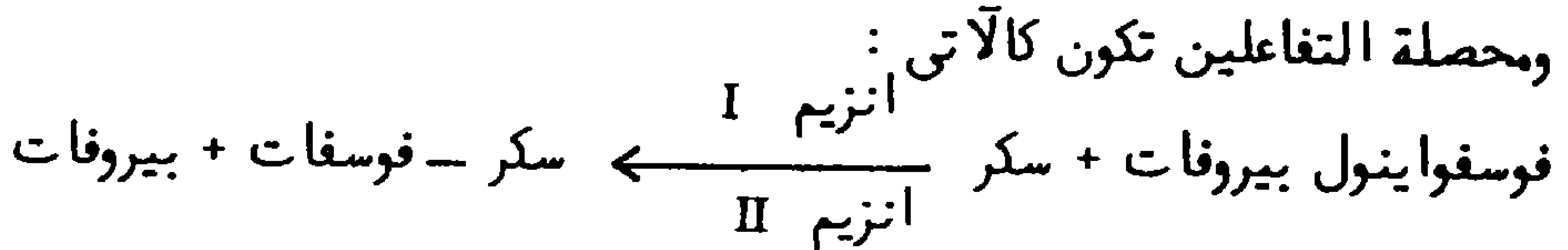


فوسفواينول بيروفات + Hpr ـــ انزيم I ــ< Hpr -- فوسفات + فوسفات + بيروفات



فوسفو ــ rpH + سكر ـــ انزيم II ــ< سكـر ــ فوسفات + Hpr

ومحصلة التفاعلين تكون كالآتى :



فوسفواينول بيروفات + سكر ـــ انزيم I / انزيم II ــ< سكر ــ فوسفات + بيروفات

وكل نوع من أنواع البكتيريا يحتوى على نوع واحد من انزيم I ونوع واحد من Hpr قادرين على العمل فى نقل العديد من السكريات · لذلك فان الطفرة التى تؤدى الى اتلاف أيا من هذين البروتينين تؤدى الى عدم نقل كل السكريات الى داخل الخلية وبالتالى عدم القدرة على استعمالها ·

ويوجد فى كل نوع من أنواع البكتيريا العديد من أنزيمات II وكل من أنزيمات II يعمل فى ادخال سكر واحد ، لذلك فالطفرة التى تؤدى الى اتلاف انزيم II ينتج عنها فقد قدرة الخلية على استعمال سكر واحد فقط · أنزيمات II المرتبطة بغشاء الخلية تلعب دور البيرميزات Permeases علاوة على قدرتها على الفسفرة Phosphorylation . والطفرات التى فقدت انزيم I أو Hpr تقوم فيها انزيمات II بعمل النقل المدعم·

وقد يبدو للوهلة الأولى أن نظام النقل المصحوب بالتغييرالكيميائى يؤدى الى اهدار الطاقة نتيجة فقد رابطة فوسفات غنية فى الطاقة عند ادخال المادة المغذية الى الخلية ، ولكن ذلك ليس صحيحا ، اذ أن عملية النقل هذه تشمل تحويل السكر الى سكر ــ فوسفات وتكوين مثل هذا

المركب فى الحالات الأخرى يشمل أيضا فقد رابطة فوسفات غنية فـــى الطاقة يتم الحصول عليها من ATP فى تفاعل انزيم الكينيز Kinase.

تأثير المواد الذائبة على النمو والنشاط الأيضى للأحياء الدقيقة :

تلعب نظم نقل العناصر المغذية دورين أساسيين فى وظائـــف الخلية :

أولا : الحفاظ على تركيز داخلى لكل العناصر المغذية الأوليـــة Primary substrates عند مستوى عالى بالدرجة الكافية لتأمين انتـــاج الطاقة ، وكذلك بناء مكونات الخلية المختلفة على مستوى قريب من الحـــد الأقصى . حتى عندما يكون تركيز هذه الـعناصر المغذية الأولية فـــى الوسط الخارجى منخفض . ويستدل على ذلك من استمرار الخلايا فـــى مجتمع من الخلايا فى التكاثر بطريقة لوغاريتمية (أنظر نمو المجتمعـــات) حتى يصل أحد العناصر المغذية الأساسية الى تركيز منخفض جدا (يكاد يكون صفر) . وعندما يصل التركيز الى هذا الحد المنخفض جدا ينخفض معدل التكاثر بسرعة شديدة الى الصفر .

ثانيا : العمل على تنظيم الضغط الأسموزى Osmoregulation وذلك بحفظ المواد الذائبة (وخاصة الجزيئات الصغيرة والأيونات) علـى مستوى أمثل للنشاطات الأيضية حتى وان اختلف الضغط الأسموزى خـارج الخلية فى مدى كبير نسبيا .

ولا تحتاج معظم البكتيريا لتنظيم الضغط الأسموزى الداخلـــى بدقة كبيرة لأن وجود الجدار الخلوى ـ القادر على تحمل قدر كبير مـــن الضغط الداخلى ـ يحمى الخلية من الانفجار . وتحتفظ البكتيريا دائما بضغط أسموزى داخلى أعلى من الضغط الأسموزى للوسط المحيط بهـــا . أما اذا انخفض الضغط الأسموزى الداخلى الى حد أقل من الضغـــط الأسموزى الخارجى فان الماء الخلوى يبدأ فى الخروج من الخلية ويقـــل حجم السيتوبلازم مسببا تحطم الغشاء الخلوى . فى البكتيريا الموجبـــة

لجرام ينفصل الغشاء الخلوى على الجدار الخلوى ، ويقال بأن الخليـــة تبلزمت Plasmolyzed.

أما فى البكتيريا السالبة لصبغة جرام فلا يحدث لها البلزمة علـــى النمط السابق ولكن الجدار الخلوى ينجذب للداخل تابعا للغشـــاء الخلوى ، وهذا أيضا يزيد من تحطم الغشاء الخلوى.

تختلف البكتيريا كثيرا فى احتياجاتها من الضغط الأسموزى الخارجى ، فبعض البكتيريا تنمو فقط فى محاليل مخففة ، ولكن البعض الآخر ينمـــو فى محاليل مشبعة من كلوريد الصوديوم.

وتقسم الكائنات الدقيقة وفقا لقدرتها على تحمل الضغط الأسموزى العالى فى الأوساط الخارجية الى ما يلى :

(١) الأحياء الدقيقة التى تتحمل ضغط أسموزى مرتفع ناتج عـن السكر Osmotolerant وهى الأحياء الدقيقة التى تعيش على الضغـوط الأسموزية المنخفضة ، ولكنها تتحمل الضغوط الأسموزية المرتفعة فـــى الأوساط الخارجية مثل عدد كبير من الخمائر والفطريات.

(٢) الأحياء الدقيقة المحبة لضغط أسموزى ناتج عن السكـــر Osmophilic وهى أحياء دقيقة تحتاج الى ضغط أسموزى عالى فـــى الوسط الخارجى حتى تستطيع أن تعيش.. ومن أمثلتها الفطر Xeromy-ces bisporus.

(٣) الأحياء الدقيقة التى تتطلب الملح بصفة اجبارية Obligate halophile وهى أحياء دقيقة تتطلب كلوريد الصوديوم لنموها بصفـــة اجبارية ، ولا يمكنها أن تنمو فى غيابه.

(٤) الأحياء الدقيقة التى تتطلب الملح بصفة اختيارية Faculta-tive halophiles وهى أحياء دقيقة تنمو فى وجود أو غياب الملح (كلوريـــد الصوديوم).

(٥) الأحياء الدقيقة التى تتطلب محاليل مشبعة من الملح بصفة اجبارية Extreme halophiles وهى مجموعة من الأحياء الدقيقة لا تنمو

الا فى المحاليل المشبعة من كلوريد الصوديوم . والاحتياج لكلوريد الصوديوم فى حالات الأحياء الدقيقة التى تتطلب الملح بصفة اجبارية لنموها احتياج أساسى ولا يمكن احلاله بكلوريد البوتاسيوم أو أى أملاح أخرى أحادية التكافؤ .. وفيما يبدو أن الصوديوم يلعب دورا هاما فى ثبات الجدار الخلوى للبكتيريا التى تتطلب محاليل ملحية مشبعة بصفة اجبارية مثل Halobacterium والذى لا يحتوى جداره الخلوى على مادة الببتيد وجليكان مما يجعل الخلايا تنفجر اذا وضعت فى الماء .. على عكس أنواع البكتيريا الأخرى (التى لا تتطلب وجود الملح لنموها) التى يبدو أن الصوديوم لا يلعب دورا رئيسيا فيها ، ولا يبدو لها احتياجا واضحا للصوديوم ، وهذه المجموعة من البكتيريا تعتمد على البوتاسيوم لتنظيم ضغطها الأسموزى الداخلى مما يمكنها من النمو فى أوساط تختلف كثيرا فى ضغطها الأسموزى ، وقد لوحظ فى العديد من البكتيريا تراكم أيون البوتاسيوم (K^+) أكثر من الصوديوم بدرجة كبيرة عند وضعها فى وسط ذو ضغط أسموزى مرتفع . كما توجد علاقة واضحة بين قدرة البكتيريا على تحمل الضغوط الأسموزية المرتفعة وكذلك محتوياتها من البوتاسيوم ..

تكوين وافراز الانزيمات:

الأحياء الدقيقة ذات النواة الحقيقية الخالية من الجدار الخلوى لديها القدرة على ابتلاع الغذاء وقطرات السوائل بميكانيكية الابتلاع Phagocytosis أو الشرب Pinocytosis الذين سبق الاشارة اليهما . ولكن البكتيريا ذات الجدار الخلوى لا تستطيع ذلك ، ولكنها فى نفس الوقت لها القدرة على التغذى على عدد من الجزيئات الكبيرة Macromolecules بما فى ذلك عديدات التسكر Polysaccharides والبروتينات والأحماض النووية ، ومعظم هذه المواد لا يمكنها عبور الغشاء الخلوى. وبناء عليه فانه يتم تكسيرها أو تحليلها خارج الخلية بواسطة انزيمات تفرزها الخلية تسمى الانزيمات الخارجية Exoenzymes تبنى فى الخلية وتفرز للخارج . والانزيمات الخارجية عبارة عن انزيمات تحليل مائى Hydrolases تؤدى الى تحليل الجزيئات الكبيرة تحليلا مائيا الى

نواتج قابلة للذوبان فى الماء ، ويمكنها الانتقال خلال الغشاء بواسطة نظم النقل المختلفة فى الخلية لتعمل كمصدر للطاقة أو بناء المكونات المختلفة للخلية ، ويسمى التحلل المائى لهذه الجزيئات الكبيرة خارج الخلية " بالهضم خارج الخلية " Extracellular digestion لتمييزه عن الهضم داخل الخلية Intracellular digestion الذى يحدث بعد الابتلاع Phagocytosis فى ذوات النواه الحقيقية .

عندما تظهر مستعمرات ميكروبية على مستنبتات آجار صلبة تحتوى على جزيئات غذائية كبيرة غير ذائبة (مكونة راسب فى الآجار) فان المستعمرات تكون حولها مناطق رائقة تتكون نتيجة افراز انزيمات خارج الخلايا تهضم الجزيئات الكبيرة غير الذائبة وتحولها الى جزيئات صغيرة ذائبة لا تظهر فى الآجار . وهذه الجزيئات الصغيرة يمكنها اختراق غشاء الخلية بواسطة نظم النقل المختلفة ، بينما لا يمكن دخول الجزيئات الكبيرة عبر الغشاء الخلوى . والجدول (١١ـ١) يوضح بعض انزيمات خارج الخلية وفعلها ونواتجها والكائنات التى تفرزها .

وليست كل انزيمات خارج الخلية تفرز بهدف الحصول على الطاقة أو مكونات الخلية المختلفة ، بل أحيانا ما تفرز الخلية أنزيمات خارج الخلية لأهداف أخرى مثل افراز أنزيم البنسلينيز Penicillianase الذى تفرزه بعض أنواع البكتيريا لحماية نفسها من نشاط البنسلين عليها .... وهكذا .

الانزيمات البيريبلازمية : Periplasmic enzymes

يحتوى الحيز البيريبلازمى Periplasmic space (الحيز بين الغشاء الخلوى وطبقات الجدار الخلوى) فى البكتيريا السالبة لصبغة جرام على انزيمات تسمى الانزيمات البيريبلازمية . وحيث أن هذه الانزيمات تقع خارج الغشاء الخلوى فهى بالقطع انزيمات خارج الخلية Exoenzymes ولكنها لا تستطيع اختراق طبقات الجدار الخلوى الخارجية (الغشاء الخارجى) ولذلك تظل محبوسة فى الحيز البيريبلازمى .

جدول ١١ ـ ١ : أمثلة لبعض الانزيمات الخارجية والأحياء الدقيقة (بدائية النواة) التى تفرزها

الانزيمات الخارجية	المادة التى تحللها	الجزيئات التى تدخل الخلية عبر الغشاء الخلوى	البكتيريا التى تفرز الانزيم
الأنزيمات المحللة للكربوهيدرات :			
الأميليز	النشا	جلوكوز ـ مالتوز ـ سكريدات عديدة	باسيلس ساتلس *Bacillus subtilis*
البكتينيز	البكتين	حمض الجلكتويورونيك	باسيلس بوليمكسا *B. polymyxa*
السليوليز	السليلوز	جلوكوز ـ سلوبيوز	كلوستريديم ثرموسيلم *Clostridium thermocellum*
ليسوزايم	الببتيد وجليكان		ستافيلوكوكاس أورياس *Staphyloccus aurens*
الشيتينيز	الشيتين	الشيتوبيوز	
الأنزيمات المحللة للبروتين Proteinases			
الببتيديز	الببتيدات	الأحماض الأمينية	باسيلس ميجاتيريم *B. megaterium*
الأنزيمات المحللة للأحماض النووية Nucleases			
DNase	د ن أ	دى أوكسى نيوكليوتيدات	ستربتوكوكاس هيموليتكاس *Streptococcus hemolyticus*
RNase	ر ن أ	ريبونيكليوتيدات	باسيلس ساتلس *Bacillus subtilis*
الأنزيمات المحللة للدهون			
ليبيز	الليبيدات	الجلسرول والأحماض الدهنية ..	كلوستريديم ولشياى *Clostridium welchii*

تابع جدول ١١ـ١ : أمثلة لبعض الانزيمات الخارجية والأحياء الدقيقة (بدائية النواه) التى تفرزها ..

الأنزيمات الخارجية	المادة التى تحللها	الجزيئات التى تدخل الخليــة عبر الغشاء الخلــوى	البكتيريا التى تفرز الانزيــم
الأنزيمات المحللة للبولى بيتا هيدروكس بيوترات :			
دى بوليميريز	بولى بيتا هيدروكس بيوترات	بيتا هيدروكس بيوتريل بيتا هيدروكس بيوترات	سود وموناس Pseudomonas

ويمكن تحريرها من هذا الحيز اما بمعاملات طبيعية كصدمة البرودة الأسموزية (وذلك بتعريض الخلايا لخفض سريع فى الضغط الأسموزى الخارجي عند درجة حرارة منخفضة) أو بمعاملات كيميائية (مثل المعاملة باللايسوزايم Lysozyme فى وجود مادة ماسكة للأيونات Chelat-ing agent مثل حمض الايثلين داى آمين تتراسيتيك Ethylene Diamine Tetra Acetic Acid والتى يرمز لها بالرمز EDTA ، وقد لوحظ أن عددا قليلا نسبيا من الانزيمات الموجودة فى الحيز البيريبلازمى ذو وظيفة هضمية (جدول ١١ـ٢) . بينما تكون معظم الانزيمات فى هذا الحيز عبارة عن انزيمات فوسفاتيز التى تحول المركبات المفسفرة ـ التى لا تستطيع عبور الغشاء الخلوى ـ الى مركبات حرة من الفوسفور (انزيمات ٣ـ٧ فى جدول ١١ـ٢) كما تشتمل الانزيمات البيريبلازمية على انزيم البنسلينيز .

ومن المهم أن نشير الى أن عددا كبيرا من الانزيمات البيريبلازمية فى البكتيريا السالبة لصبغة جرام المذكورة تفرزها البكتيريا السالبة لصبغة جرام فى الوسط الخارجي True Exoenzymes مثل انزيمات الريبونيكلييزا والبنسلينيزات .

وبالاضافة للانزيمات البيريبلازمية فى البكتيريا السالبة لصبغة جرام فان هذه المجموعة من البكتيريا تفرز بعض انزيمات أخرى تستطيع العبور

الى خارج الخلية تماما True exoenzymes ولا يعرف لماذا تستطيع بعض الانزيمات اختراق طبقات الجدار الخلوى بينما لا يستطيع البعض الآخر من الانزيمات عمل ذلك.

جدول ١١ـ٢ : بعض الانزيمات الموجودة فى الحيز البيريلازمى

م	الانزيم	التفاعل الذى يساعده
١	ريبو نيوكلييز I	يحلل الحمض النووى ر ن أ
٢	د ن أ اند ونيوكلييز I	يحلل الحمض النووى د ن أ من الداخل
٣	الفوسفاتيز القلوى	يزيل مجموعات الفوسفات من عدد من المركبات العضوية .
٤	نيوكليوتيديز ـ ٥' 5'nucleotidase	يحول عددا من النيوكليوتيدات الى نيوكليوسيدات .
٥	هكسوز فوسفاتيز حمضى	يزيل مجموعات الفوسفات من عدد من السكريات المفسفرة .
٦	فوسفاتيز حمضى	يزيل مجموعات الفوسفات من عدد من المركبات العضوية .
٧	فوسفو داى استريز المركبات الحلقية	يحول ريبو نيوكليوسيد ٢'-٣' الحلقى الى نيو كليوسيد + فوسفات
٨	البنسلينيز	يحلل البنسلين وبالتالى يوقف فعله ضد البكتيريا .

الانزيمات خارج الخلية المرتبطة بالغشاء الخلوى

Cell bound exoenzymes

وهى انزيمات خارج الغشاء الخلوى، ولكنها مرتبطة بشدة به مثل الانزيمات المسئولة عن تحليل السليلوز فى مجموعة البكتيريا المسماة Cytophage وليس معروفا كيف تخرج هذه الانزيمات الى خارج الغشاء الخلوى حيث لا يوجد نظام لنقلها ؟ ويعتقد البعض بوجود ريبوسومات

مرتبطة بالغشاء الخلوى ، وهى تقوم ببناء هذه الانزيمات وتمررها الى خارج الغشاء مباشرة كسلسلة منفردة من الأحماض الأمينية ، ولكن بعض هذه الانزيمات يوجد داخل الخلية مما يضعف هذا الاعتقاد .

ومعظم هذه الانزيمات ذات وزن جزيئى منخفض حوالى ٢٠٫٠٠٠ - ولكن البكتيريا Pseudomonas myxogenes تفرز انزيما خارج الخلية ومرتبط بالغشاء ذو وزن جزيئى يصل الى ٧٧٫٠٠٠ وهو البروتييز Protease .

وبعد نفاذ المواد الغذائية الى داخل الخلية تقوم الخلية بعمليات التمثيل الغذائى المختلفة من انتاج طاقة وانتاج مكونات الخلية وتنمو فى الحجم والوزن الى أن تنقسم الى خليتين .

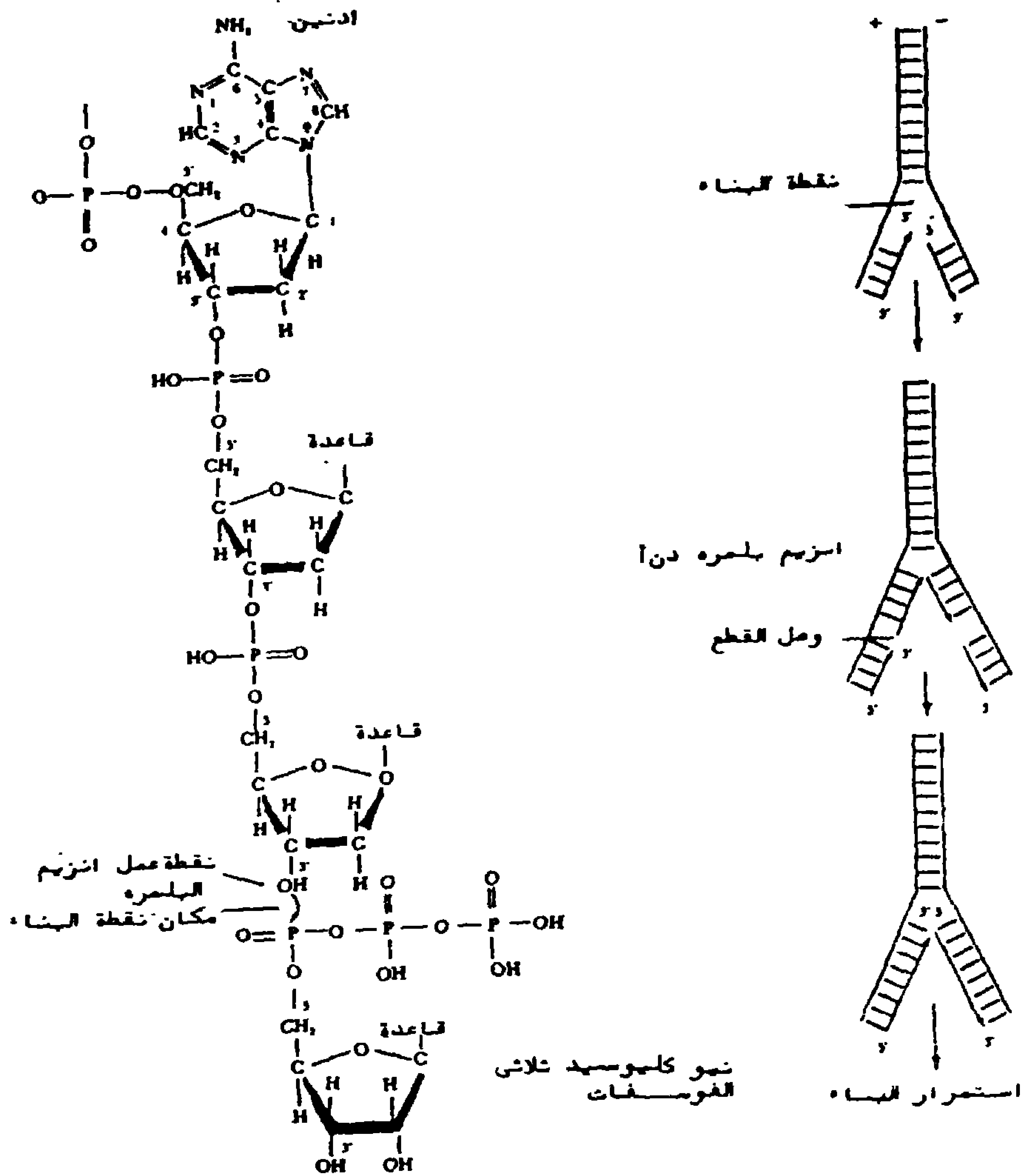
انقسام الكروموسوم لتكوين نسخة طبق الأصل :

Chromosome replication

ان انقسام الكروموسوم لتكوين نسخة طبق الأصل منه هى خطوة أساسية تسبق انقسام الخلية الى خليتين . بل ان الخلايا التى تنمو نموا لوغاريتميا عادة ما تحتوى على أربع كروموسومات . وقد ذكرت حالات احتوت فيها الخلايا على سبع كروموسومات . ولا يعنى وجود أكثر من كروموسوم فى نفس الخلية أن الخلية تتغير من أحادية الأساس الكروموسومى haploid الى ثنائية diploid أو عديدة الأساس الكروموسومى Polyploid اذ أن جميع الكروموسومات هى نسخ طبق الأصل ، علاوة على أنه عندما تنتهى مرحلة النمو اللوغاريتمى فان كل خلية تحتوى على كروموسوم واحد فقط .

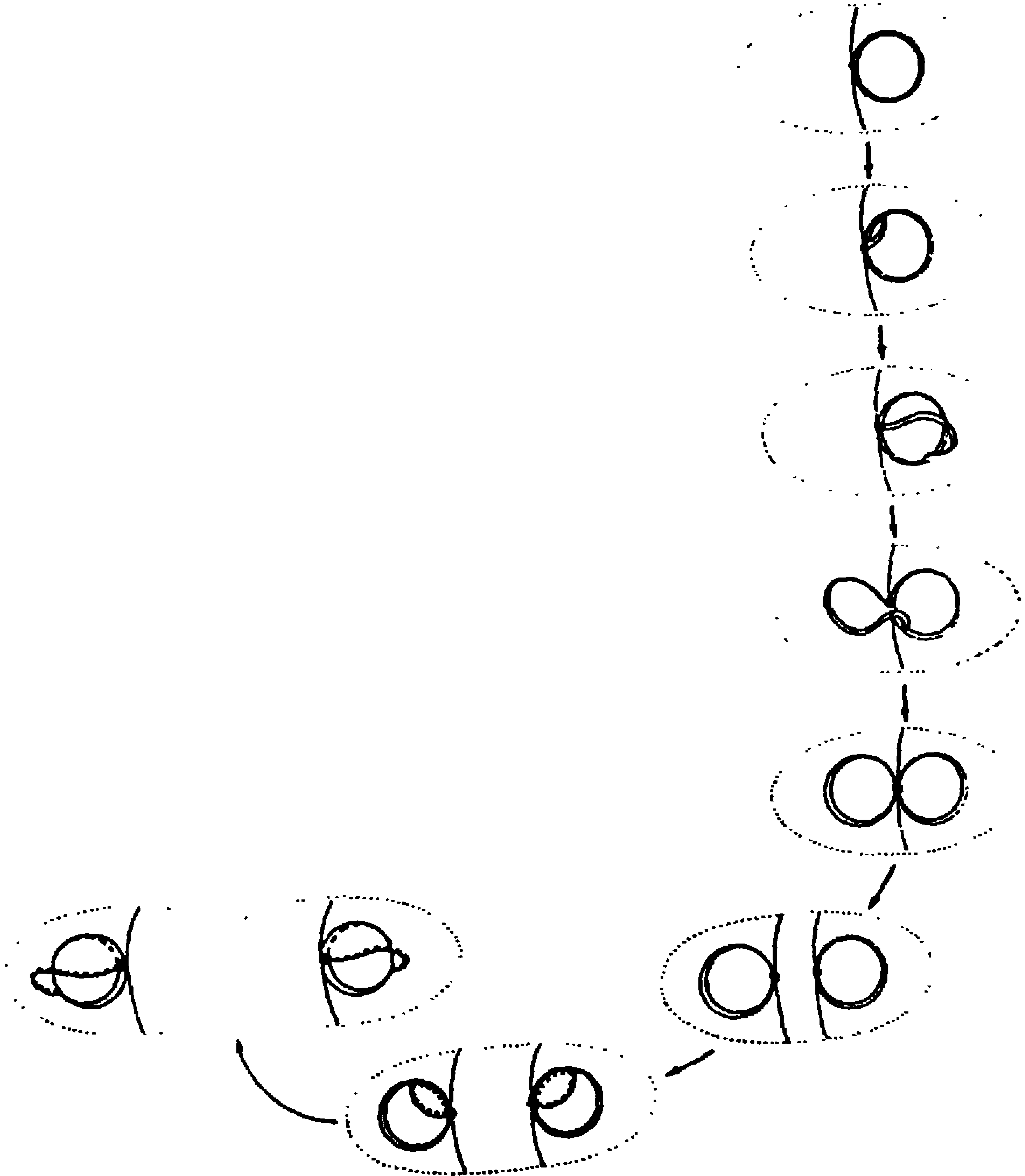
ان تركيب جزيء الحمض النووى د ن أ DNA الذى اقترحه واتسون وكريك Watson and Crik سنة ١٩٥٣م يفرض الكيفية التى ينسخ بها الكروموسوم بدقة متناهية . فالكروموسوم عبارة عن سلسلة مزدوجة Double-helix . كل سلسلة مكونة من جزيئات ٢ دى أوكسريبوز 2-deoxyribose مرتبط مع بعضها برابطة داى استر فوسفاتية Phospho diester bonds مرة على مجموعة الهيدروكسيل على ذرة الكربون رقم ٣ ومرة على مجموعة الهيدروكسيل على ذرة الكربون رقم (٥) . ترتبط

قواعد البيورين والبيريميدين على ذرة الكربون رقم (١) متجهة للداخل في كلتا السلسلتين . وترتبط كل قاعدة بيورين في احدى السلسلتين بقاعدة بيريميدين على السلسلة الأخرى ، فيرتبط الجوانين (G) بالسيتوزين (C) ويرتبط الآدنين (A) بالثيمين (T) .. وعند وجود هذه القواعد في الصورة الكيتونية (وليس الصورة الأينولية) والصورة الأمينية Amino (وليس الايمينو Imino) ، فان ثلاث روابط هيدروجينية Hydrogen bonds تتكون بين الجوانين والسيتوزين أما الثيمين والآدنين فيربط بينهما رابطتين هيدروجينيتين فقط كما في شكل (١٤ـ٦).
وترتيب هذه القواعد يمثل الخواص الوراثية لكل كائن وتكون هاتين السلسلتين متوازيتين تماما الا أن أحدهما تكون عكس الأخرى ، بمعنى أن احدى السلسلتين تتجه من ٣َ الى ٥َ بينما تتجه السلسلة الأخرى من ٥َ الى ٣َ ، لذلك يقال أنهما ذو تواز عكسي (مضاد) Antiparallel . وهناك دليل جيد على أن تركيب وبناء الحمض النووي دنأ DNA في كلا النوعين من الأحياء الدقيقة (ذات النواة البدائية وذات النواه الحقيقية) متماثل ويتم بلمرة الحمض النووي الجديد بواسطة انزيم بلمرة خاص يسمى DNA Polymerase فتنفصل السلستان ويبدأ تكوين سلسلة مكملة جديدة لكلا السلسلتين المنفصلتين ، وانزيم البلمرة الخاص يعمل في اتجاه واحد ٥َ ← ٣َ . لذلك لا تتكون السلسلتين باضافات مستمرة باستمرار انفصال السلسلتين ، ولكن انزيم البلمرة الخاص يعمل على اضافة قطع صغيرة من ٥َ الى ٣َ في كلا الاتجاهين ثم يقوم انزيم ربط خاص DNA Ligase يربط هذه القطع الصغيرة مع بعضها . وتستمر عمليات انفصال السلسلتين والبلمرة في الاتجاهين ثم الربط الى أن يتكون كروموسوم جديد نسخة طبق الأصل من الكروموسوم الأصلي ، وبذلك فان الكروموسوم الأصلي يعمل كأساس لتكوين كروموسومين متماثلين تماما . كما أن الكروموسوم الأصلي يعمل كمادة أولية للتفاعل Primer فانزيم DNA Polymerase لا يستطيع تكوين جزئ DNA من مخلوط من النيكليوتيدات Nucleotides بدون وجود حمض نووي دنأ لبدء التفاعل . وهذا الانزيم له المقدرة في نسخ جزيئات DNA الموجودة في بداية التفاعل Primers فقط (شكل ١١ـ١) .



شكل ١١-١ : يتم تضاعف دنأ دائما عند النهاية ٣/ لكل سلسلة ، ولذلك فان اتجاه بناء دنأ يكون دائما ٥/ ← ٣/ حيث يتم تكوين السلسلة من قطع صغيرة من دنأ على احدى السلسلتين ، والربط بين هذه القطع بواسطة انزيم Ligase ، أما على السلسلة الثانية فان النيوكليوتيدات تتكون السلسلة المكملة نتيجة نشاط أنزيم بلمرة دنأ DNA Polymerase

وقد سبق الاشارة لدور الميسسومات في ذوات النواة البدائيـــة في انقسام جزيء الحمض النووى DNA (شكل ١١ ــ ٢) يوضح الخطوات التى يتم فيها انفصال السلسلتين وتكوين الجزيئات الجديدة متصلــة بالغشاء الخلوى ، ثم بدء سلسلة جديدة .



شكل ١١ ــ ٢ : يتضاعف د ن أ فى ذوات النواه البدائية وينفصل خلال انقسام الخلية ويتم تضاعف د ن أ من نقطة محددة على الكروموسوم ويتقدم مـــن الجهتين . . .

أما الأحياء الدقيقة ذات النواة الحقيقية فهى تحتوى على عدد من الكروموسومات أطول كثيرا من الكروموسوم فى الأحياء الدقيقة ذات النواة البدائية . ويبدأ انفصال السلسلتين والبلمرة فى عدة نقاط على طول الكروموسوم فى كلا الاتجاهين ، ويعتبر ذلك ميزة هامة ، اذ أن تكوين الكروموسوم فى عدة نقط وفى الاتجاهين يسمح باختصار كبير فى الوقت اللازم للانقسام .

نسبة القواعد النيتروجينية فى الأحماض النووية د ن أ .

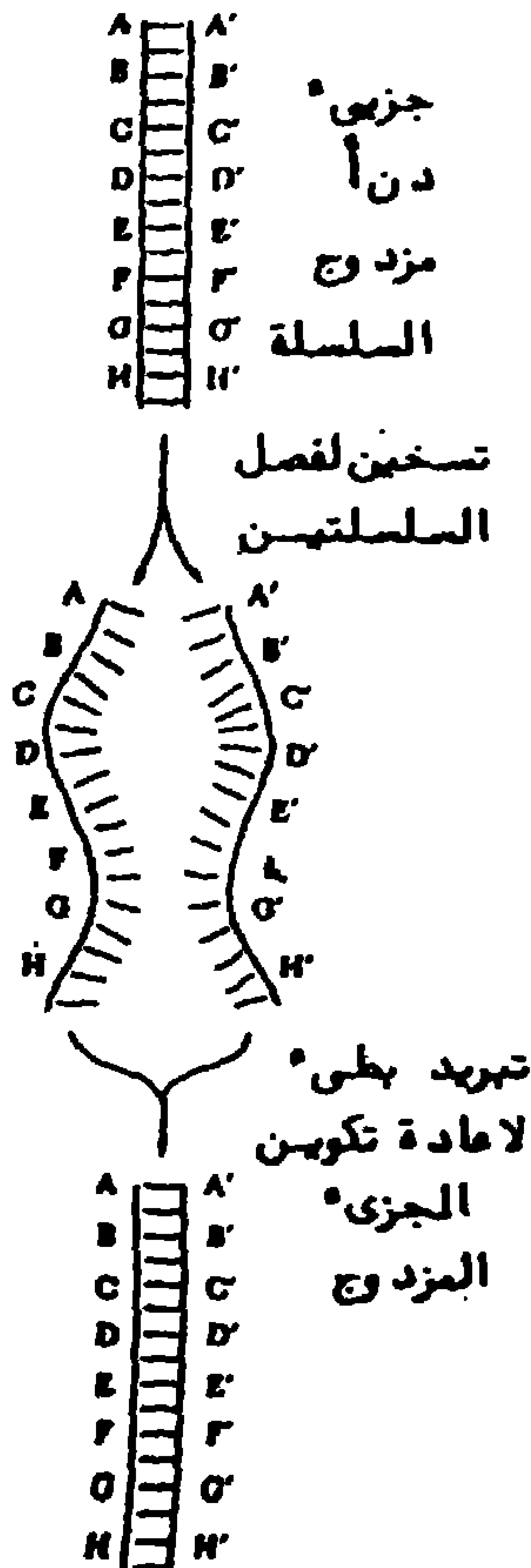
DNA base composition

لا شك أن معرفة ترتيب القواعد النيتروجينية فى الأحياء المختلفة يعتبر الحل الأمثل لتقدير مدى قرابة الأحياء المختلفة لبعضها . ولكن معرفة مثل هذا الترتيب مازالت بعيدة المنال . لذلك لجأ العلماء لدراسة النسب المختلفة من القواعد النيتروجينية المختلفة فى الأحماض النووية د ن أ فى الأحياء الدقيقة . والمعروف أن الأحماض النووية د ن أ يوجد بها الآدنين مساويا للثيمين . أما الجوانين فيكون مساويا للسيتوزين ، ولكن نسبة الآدنين ـ ثيمين تختلف كثيرا عن نسبة الجوانين ـ سيتوزين فى الأحياء المختلفة . لذلك فان نسبة الجوانين ـ سيتوزين تتخذ كثيرا كدليل على اختلاف أنواع مختلفة من الكائنات . فاذا فرض أن كائنين متشابهين الى حد ما فى الصفات الظاهرية ، ولكن أحدهما يحتوى على نسبة جوانين ـ سيتوزين ٤٠٪ والثانى يحتوى على نسبة جوانين ـ سيتوزين ٧٠٪ فان ذلك يؤكد اختلاف هذين الكائنين عن بعضهما حتى وإن تشابها فى بعض الصفات .

ويعبر عن نسبة القواعد فى الحامض النووى باسم Base composition of DNA وهى تقدر كنسبة مئوية لعدد مولات الجوانين + الستوزين (G + C) وسنرمز لها باللغة العربية بالرمز (جـ+س) أما الآدنين + ثيمين (A + T) فسنرمز لها بالرمز (أ + ت) .. ولابد أنه قد تبادر الى ذهن القارئ أنه عندما تكون نسبة (جـ+س) = ٤٠٪ فانه

من الضرورى أن تكون نسبة (أ+ت) مساوية الى ٦٠٪ وذلك لأن المجموع للنسبتين لابد وأن يساوى ١٠٠٪

وتتراوح نسبة (ح + س) فى الأحياء الدقيقة المختلفة من ٢٢ الى ٧٤٪ ، وبسبب وجود عدة شفرات لمعظم الأحماض الأمينية (جدول ١١ـ٣) فانه من الممكن أن تختلف نسبة (ح + س) فى الأحياء الدقيقة اختلافا بسيطا (أقل من ١٠٪) مع استمرار تكوينها لنفس البروتينات، ولكن عندما تختلف نسبة (ح + س) اختلافا كبيرا (أكثر من ١٠٪) فى نوعين من الكائنات كما ذكرنا فان ذلك يؤخذ كدليل على اختلاف النوعين اختلافا جوهريا ٠



شكل ١١ـ٣ : انصهار دنأ بالحرارة الى سلاسل منفردة ثم اعادة تكوين السلاسل المزدوجة بالتبريد البطيء٠٠٠

ولا يعني تشابه كائنين في نسبة (حـ+س) أنهما متماثلين تماما ، فمن الممكن أن يحتوى نوعين مختلفين من الكائنات الحية الدقيقة على نسبة (حـ + س) واحدة ولتكن ٤٥٪ مثلا . ولا يدل ذلك على أن هذين النوعين هما في الحقيقة نوع واحد . اذ أنه من الممكن أن يتساوى نوعان من الأحياء الدقيقة في نسبة (حـ + س) ولكن يكون ترتيب القواعد في كلاهما مختلف تماما . ولذلك عند تشابه نوعين من الأحياء الدقيقة في نسبة (حـ+س) ومعظم الصفات التقسيمية المختلفة مع وجود فوارق تمنع وضعها في نوع واحد ، فانه كثيرا ما تجرى دراسات أخرى تسمى تهجين الأحماض النووية وتماثلها .

تهجين الأحماض النووية وتماثلها :

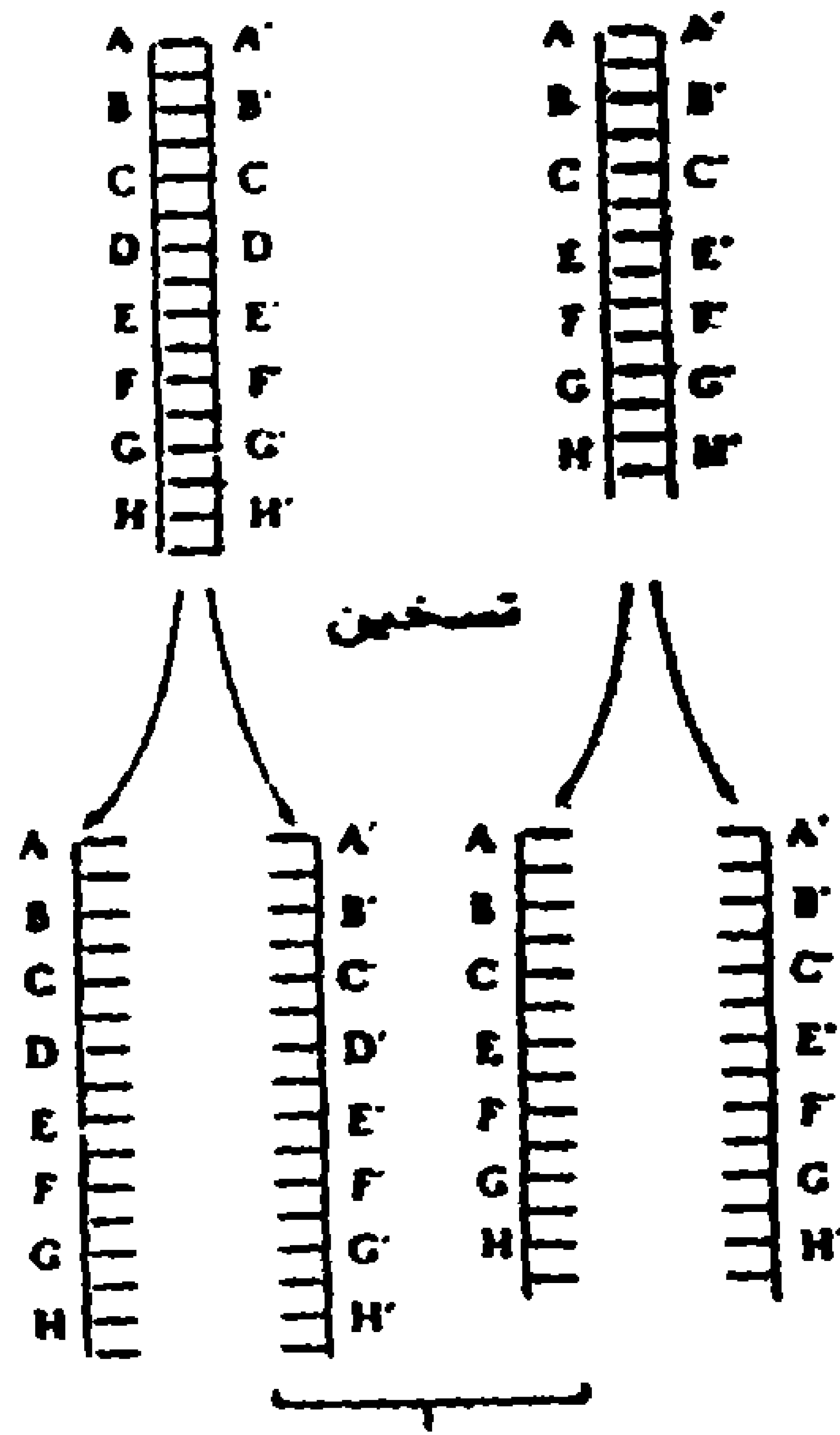
Nucleic acid hybridization and homologies

وهى طريقة يستدل بها على مدى تماثل ترتيب القواعد النيتروجينية على الحمض النووى د ن أ المستخلص من نوعين من الأحياء الدقيقة .

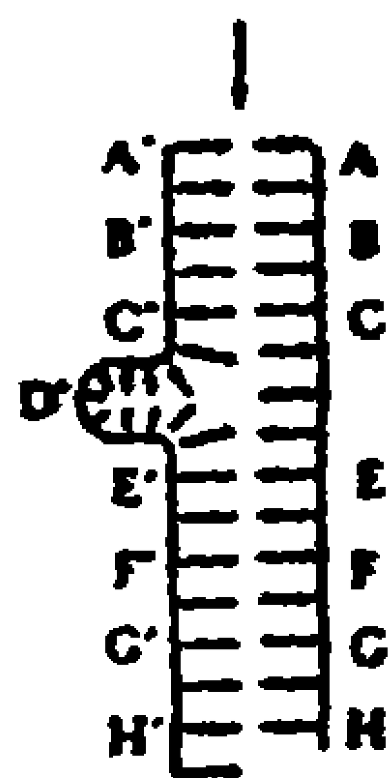
عند تسخين محلول من د ن أ مزدوج السلسلة فان الروابط الهيدروجينية بين أزواج القواعد تتكسر عندما تصل درجة الحرارة الى حد معين فتنفصل كلا السلسلتين عن بعضهما . وتسمى درجة الحرارة التى تنفصل عندها السلسلتان بدرجة الانصهار Melting point . وكلما زادت نسبة الآدنين ـ ثيمين كلما انخفضت درجة الانصهار وذلك لوجود رابطتين هيدروجينيتين فقط بينهما ، وبالعكس فانه كلما زادت نسبة الجوانين ـ سيتوزين فى د ن أ كلما ارتفعت درجة الانصهار وذلك لوجود ثلاث روابط هيدروجينية بينهما . وتستخدم هذه الخاصية (نقطة الانصهار) لحساب نسبة (حـ + س) فى الأحماض النووية د ن أ الناتجة من الأحياء الدقيقة المختلفة .

وعند تبريد محلول د ن أ الذى انفصلت السلسلتان فيه تبريدا بطيئا فانهما (السلسلتان) يعاودا الارتباط لتكوين جزىء الـ د ن أ ـ الأصلى المزدوج السلسلة (شكل ١١ـ٣) وذلك لأن السلسلتين مكملتان لبعض تماما ، وهذا مطلب أساسى لاعادة تكوين الجزىء مزدوج السلسلة (أن تكون السلسلتان مكملتين لبعض تماما أو على درجة كبيرة من التكامل).

وحيث أن تكوين الجزيء المزدوج من د ن أ مأخوذ من كائنين مختلفين يتطلب ترتيبا متماثلا للقواعد النيتروجينية في الـ د ن أ المستخلص من كلا من هذين الكائنين ٠ فان تكوين الجزيء المزدوج من د ن أ من خلط د ن أ منصهر من نوعين من الأحياء الدقيقة يدل على تماثلهما Homologious DNA وتسمى هذه الدراسات باسم " تهجين د ن أ ـ د ن أ DNA-DNA Hybridization ٠ وقد توجد درجة بسيطة من عدم التماثل فيتكون جزيء مزدوج غير متجانس Hetroduplex شكل (١١ـ٤) ٠ واذا لم توجد أي درجة من التماثل في ترتيب القواعد النيتروجينية في جزيئات د ن أ المتحصل عليه من نوعين من الأحياء الدقيقة فانه لا يتكون جزيئات مزدوجة السلسلة ، وذلك يكون دليلا قاطعا على أن قرابتهما Relatedness منخفضة أو منعدمة ٠



شكل ١١ـ٤ : تكوين السلاسل المزدوجة غير المتجانسة بين تحضيرين مختلفين من د ن أ ٠ أحد التحضيرين به جزء محذوف وهو ذلك الجزء الذي يقابل الجزء البارز D من السلسلة المقابلة ٠٠٠



جزيء د ن أ غير متجانس

وحيث أن الحمض النووى رن أ يكون مكملا لاحدى السلسلتين من الحمض النووى د ن أ فان دراسة مماثلة تجرى لصهر الحمض النووى د ن أ ثم خلطه بحامض نووى رن أ ثم التبريد البطىء والبحث عن تكوين جزيئات مزدوجة . وتسمى الدراسة فى هذه الحالة " تهجين د ن أ - رن أ DNA-RNA Hybridization ".

تعتبر دراسات التهجين هذه وسيلة ممتازة للحكم على درجة قرابة وعدم قرابة أنواع معينة من الأحياء الدقيقة لبعضها . وقد استخدمت كثيرا فى تقسيم الأحياء الدقيقة بنوعيها (ذات النواه البدائية وذات النواه الحقيقية) .

ويمكن اجراء دراسات التهجين هذه بجعل واحد من الحمضين النوويين المستخدمين فى الدراسة مميزا بجعله مشع Radioactive وذلك بتنمية الكائن الحى نفسه على مادة مشعة ، ثم تكسير الحامض النووى المشع الى قطع صغيرة بضربه فى خلاط قبل صهره .

أما التحضير الآخر من الحمض النووى المطلوب دراسة درجة تماثله فيصهر فقط ثم يخلط التحضيران المنصهران ثم يبردا ببطء وتقاس درجة تكون الجزيئات المزدوجة المشعة .

ويمكن قياس درجة القرابة Relatedness بالبحث على الجزيئات مزدوجة السلسلة غير المتجانسة Hetroduplex بالمجهر الالكترونى . وأحيانا يؤخذ وجود تكوين الجزيئات المزدوجة السلسلة غير المتجانسة كدليل على حذف أو اقتطاع deletion جزء من المادة الوراثية للخلية .

ولامكان حدوث اتصال البلازميدات أو بعض الفيروسات مع كروموسوم الخلايا البكتيرية لابد لحدوث هذا الاتصال من وجود ترتيبات مماثلة Homologious sequences من القواعد النيتروجينية التى تتصل ببعضها على كلا المادتين الوراثيتين أيضا .

نمو الغشاء الخلوى ونمو الجدار الخلوى :

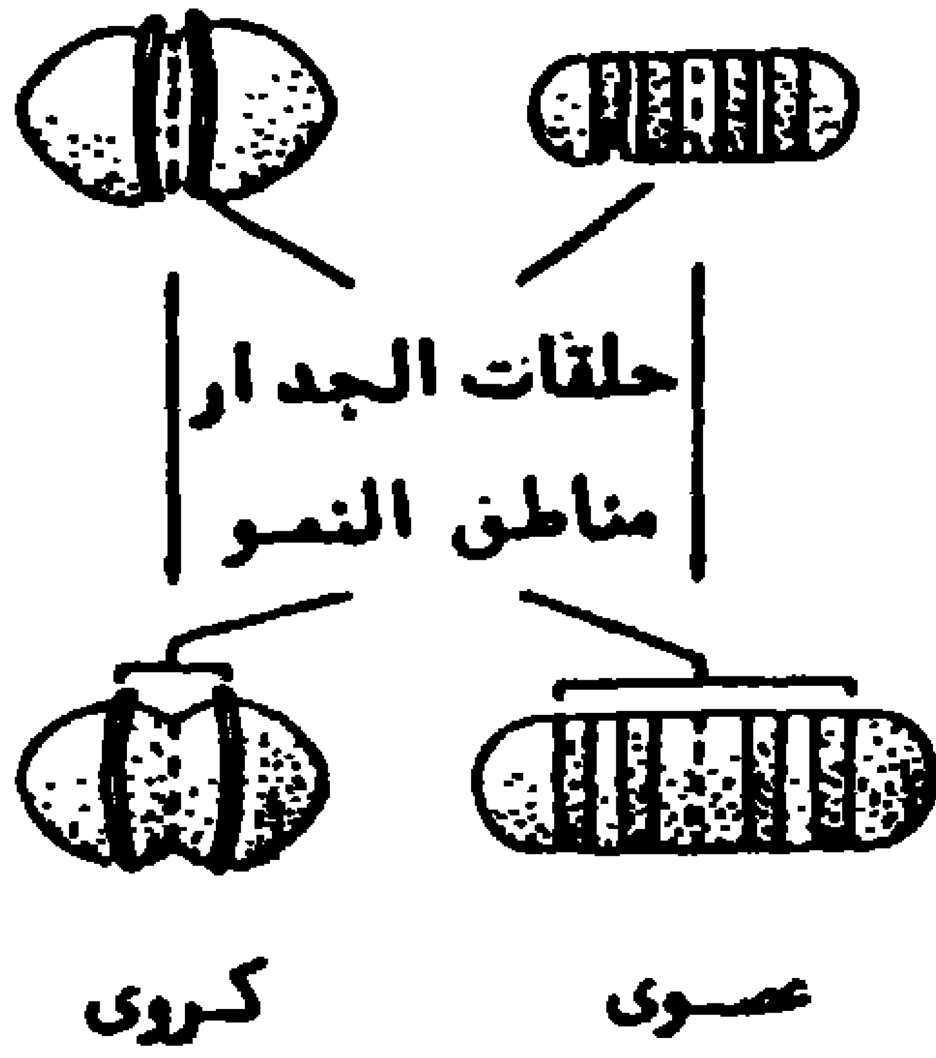
أثناء دورة نمو الخلية وانقسامها تنمو الطبقات السطحية للخلية باستمرار لتقابل الزيادة فى حجم الخلية ، فيتمدد الغشاء الخلوى والجدار الخلوى .

مع بدء استعداد الخلية للانقسام تحدث تغيرات فى مواقع بناء الجدار الخلوى ، كما أن الفاصل الغشائى العرضى يبدأ فى النمو من الخارج وفى اتجاه الداخل وعلى زاوية مضبوطة الى أن يتكون فاصل كامل يفصل البروتوبلاستين الأختين ثم يزدوج الفاصل الغشائى العرضى مكونا طبقة الغشاء الخلوى الطرفية لكلا الخليتين الأختين .

والخطوة الأخيرة تكون مصحوبة ببناء طبقتى الجدار الخلوى .ويتم بناء هذه المكونات بواسطة انزيمات موجودة فى الغشاء الخلوى ، كما تدل على ذلك دراسات تجزىء الخلية Fractionation studies .وغير معروف ما اذا كانت هذه الانزيمات تتركز فى أماكن محددة من الغشاء الخلوى أو أنها تتوزع بانتظام على سطح الغشاء الخلوى .

وقد تحدث الزيادة فى الغشاء والجدار الخلويين من خلال ادخال اضافات من مواد البناء المختلفة عند نقط نمو مخصصة للاضافات أو أن تحدث الزيادة بصورة اسطوانية عند نقاط عديدة فى الغشاء والجدار الخلويين الموجودين فعلا ، وقد أجريت العديد من التجارب للاجابة على هذا السؤال ، ولكن النتائج المتحصل عليها كانت مختلفة اختلافا كبيرا وخاصة بالنسبة لترسيب الجدار الخلوى فى البكتيريا السالبة لصبغة جرام . ويبدو أن الجدار الخلوى فيها يتمدد عند نقاط عديدة على طول الجدار الخلوى . (شكل ١١ـ٥) .

أما البكتيريا الكروية الموجبة لصبغة جرام ستربتوكوكاى Strept-ococci فانه يحدث فتح فى الجدار عند خط منصف للكرة البكتيرية وتترسب فيه مواد الجدار الخلوى الجديدة .ولذلك فان الخلايا غير النامية أو التى تتعرض للمضادات الحيوية المثبطة لتكوين الجدار الخلوى



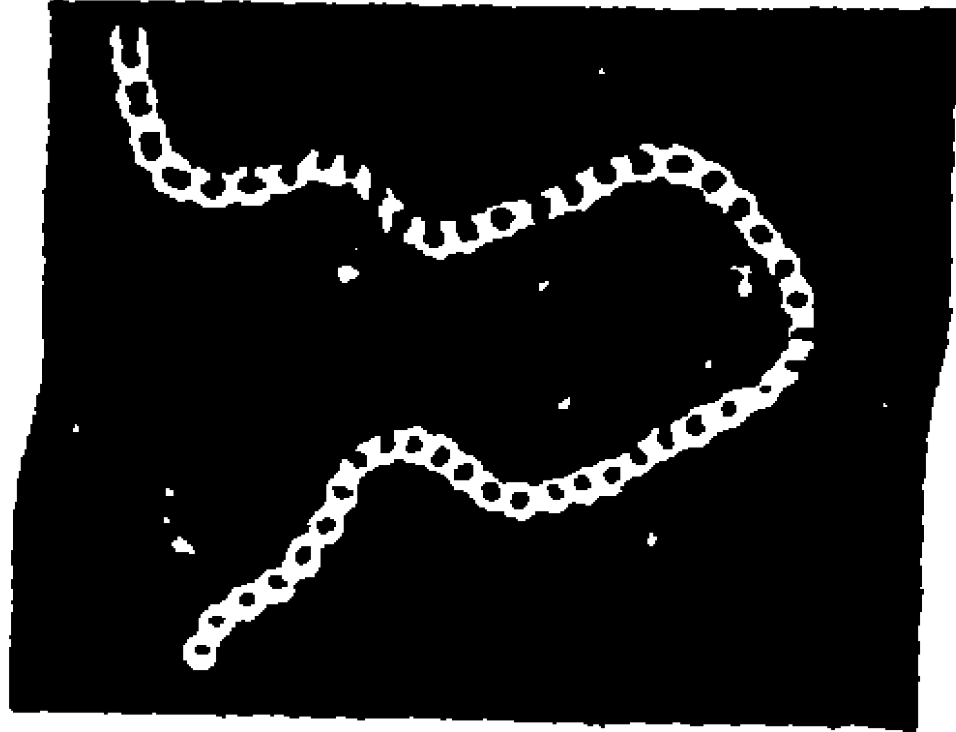
شكل ١١ـ٥ : مكان بناء الجدار الخلوي الجديد أثناء انقسام الخلية فى البكتيريا الكروية يتكون الجدار الخلوي الجديد عند نقطة واحدة فى الجدار القديم بينما فى البكتيريا العصوية يتم بناء الجدار الخلوي الجديد عند عدة نقاط من الجدار القديم ٠

مثل البنسلين Penicillin أو السيكلوسيرين Cycloserine قد تتعرض للانفجار أو التحلل الذاتى Autolysis نتيجة حدوث هذه الفتحات فى الجدار الخلوى دون ترسيب لمواد الجدار الخلوى فيها ٠

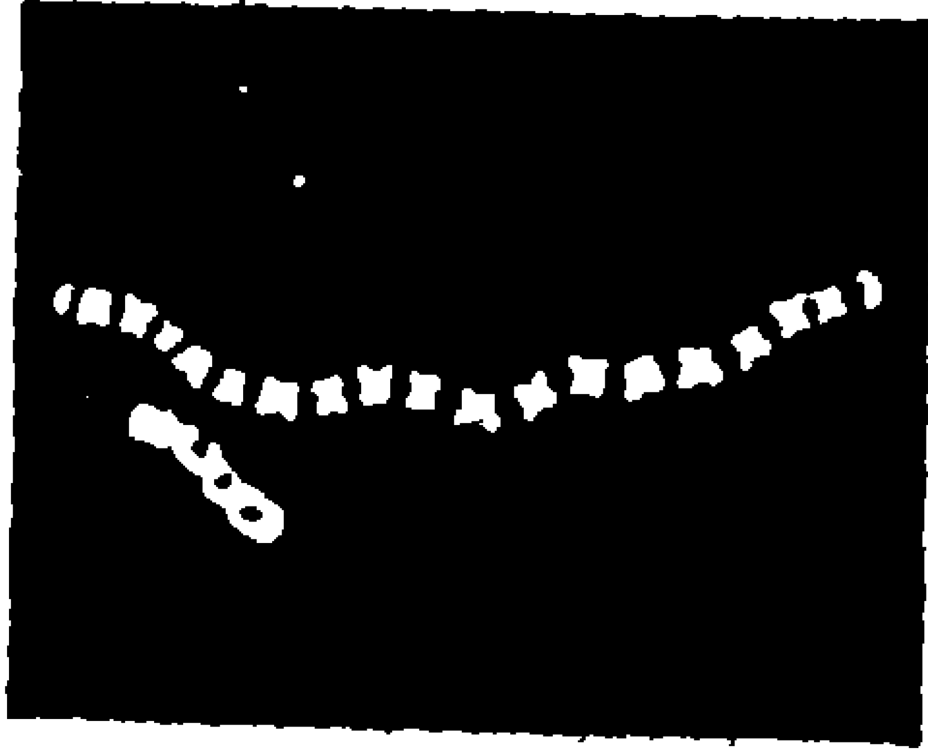
وقد أمكن الاستدلال على ذلك باستعمال أجسام مضادة Antisera متخصصة لمكونات الجدار الخلوى ـ مع صبغ هذه الأجسام المضادة بصبغة فلورسنتية ٠ وعند استخدام هذه الأجسام المضادة المصبوغة مع البكتيريا الكروية ستربتوكوكاى Streptococci فان ذلك يجعل الخلايا تشع ضوء فلورسنتيا كثيفا على جميع سطح الخلية (شكل ١١ـ٦أ) فاذا سمح للخلايا بالنمو فى غياب الأجسام المضادة الفلورسنتية بعد ذلك اتضح تكوين مناطق وسطية فى الخلايا بدون الأجسام المضادة بينما تبقى أقطاب الخلية مشعة للضوء الفلورسنتى (شكل ١١ـ٦ب).وباستمرار النمو يستمر ابتعاد الأقطاب الخلوية المشعة للضوء الفلورسنتى (شكل ١١ـ٦ جـ ، د) ٠ كما أنه لوحظ أن تجويع بكتيريا ستربتوكوكاى Streptococci لبعض الأحماض الأمينية أو معاملة الخلايا بأحد المضادات الحيوية التى تثبط بناء البروتين مثل الكلورامفينكول مع استمرار تكوين الجدار الخلوى فان ذلك يؤدى الى زيادة مستمرة فى سمك الجدار الخلوى (شكل ١١ـ٧) ٠

أما تمدد الغشاء الخلوى فهو عادة يحدث قرب منطقة الانقسام

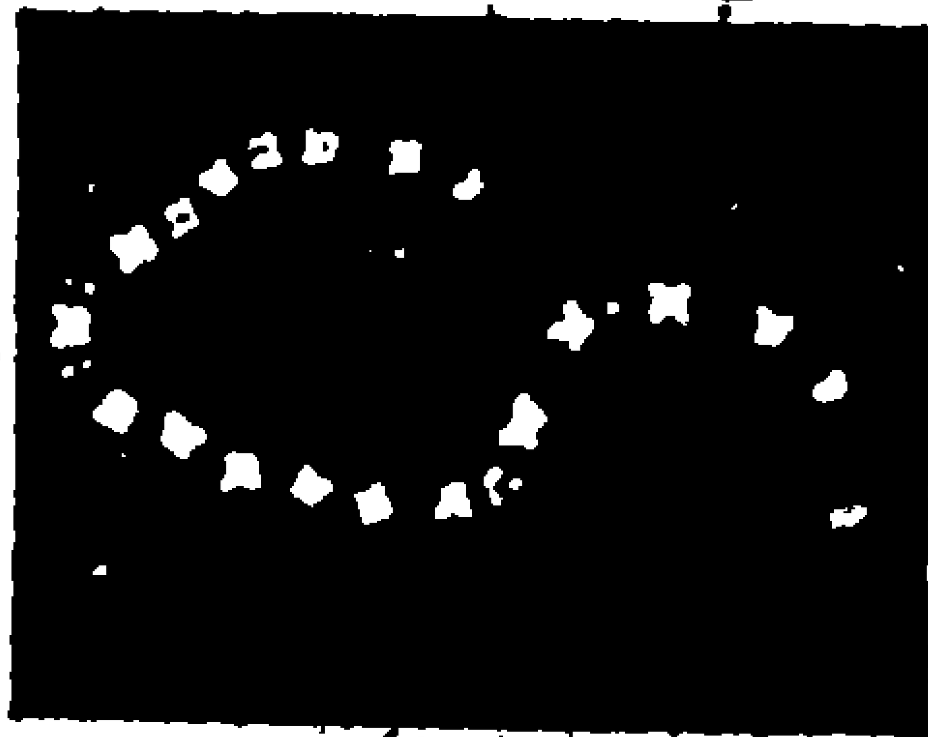
والشكل (١١ـ٨) يوضح توزيع الغشاء الخلوى فى الخلية الأم (المنطقة المظللة بين الخليتين الأختين الناتجتين)ثم استمرار الانقسام فى جيل تال لذلك الجيل ٠



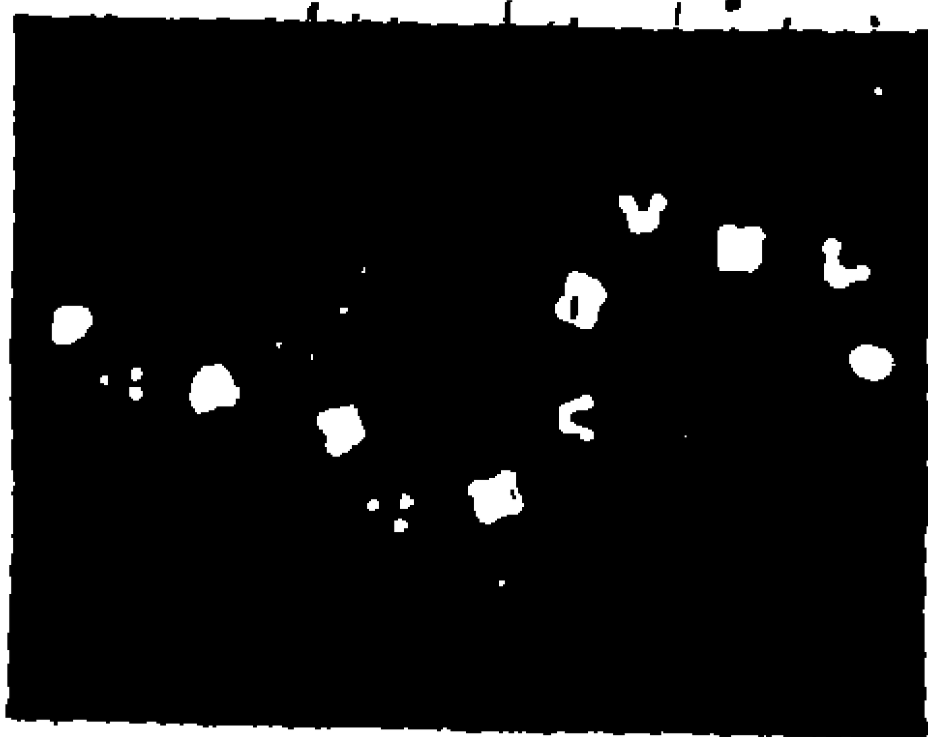
أ



ب



جـ

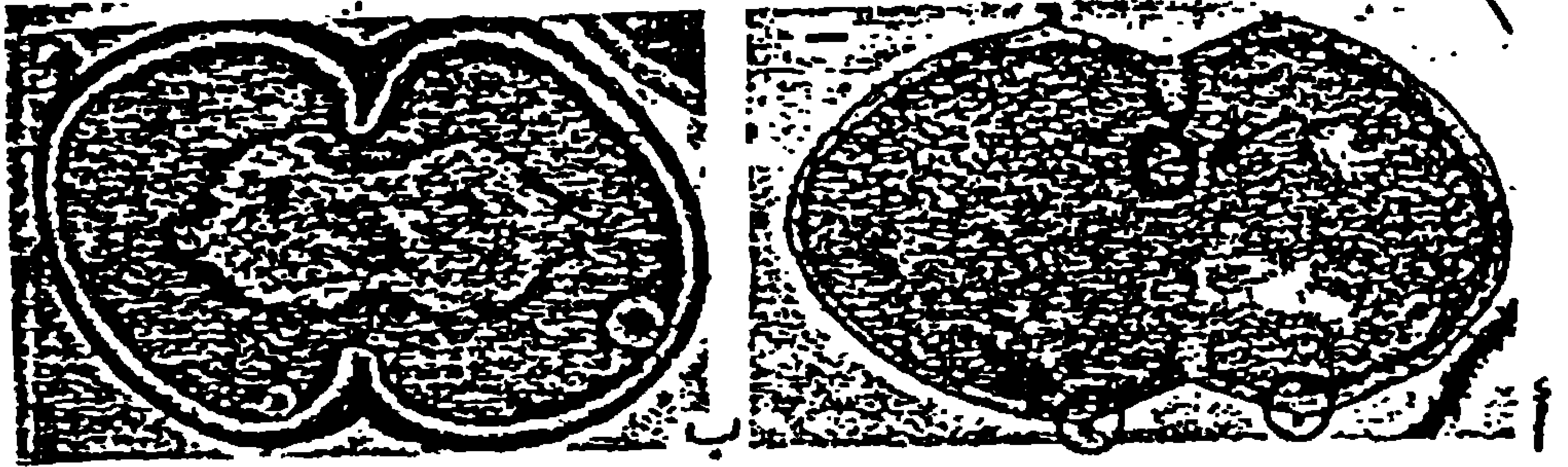


شكل ١١ـ٦ : نمو الجدار الخلوى لبكتيريا Streptococcus pyogenes متبوعا بالتصوير بمجهر الاشعة فوق البنفسجية لسلسلة من الخلايا مصبوغة أوليا بمادة مشعة ضوئيا ٠

أ ـ بعد الصبغ مباشرة حيث تبدو الخلايا كلها مصبوغة ٠

ب ـ بعد ١٥ دقيقة من الصبغ حيث تكونت جدر جديدة غير مصبوغة فى منطقة خط استواء الخلية ٠ وتبدو نهايتى الخلايا مصبوغة ٠

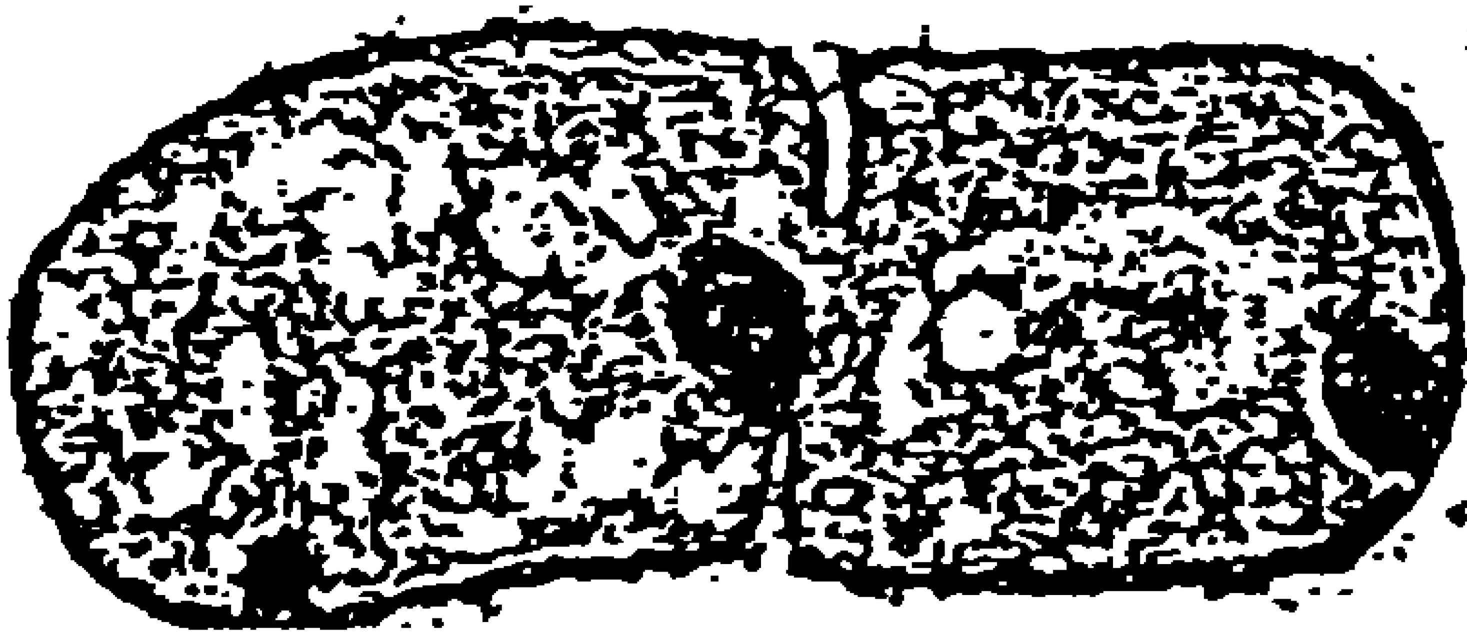
جـ ، د التصوير بعد ٣٠ ، ٦٠ دقيقة حيث استطالت السلسلة وتكونت خلايا جديدة غير مصبوغة



شكل ١١-٧ : صور بالمجهر الالكترونى للبكتيريا Streptococcus faecolis لايضاح طريقة نمو الجدار الخلوى :

أ- قطاع طول فى خلية منقسمة . وتوضح الدائرة مكان انفصال الجدار القديم عن الجدار الجديد . ويوضح السهم مكان وجود الميسوسوم.

ب- قطاع طولى فى خلية تنقسم جوعت للحمض الأمينى ثريونين فتوقف بناء البروتين بينما لم يتوقف بناء الجدار الخلوى - لاحظ الجدار الخلوى السميك مقارنة بذلك الموجود فى أ



شكل ١١-٨ : صورة بالمجهر الالكترونى لبكتيريا باسيلس ميجاتيريم تحتوى على ٣ ميسوسومات أحدها بالقرب من الغشاء الخلوى جديد التكوين بين الخليتين ...

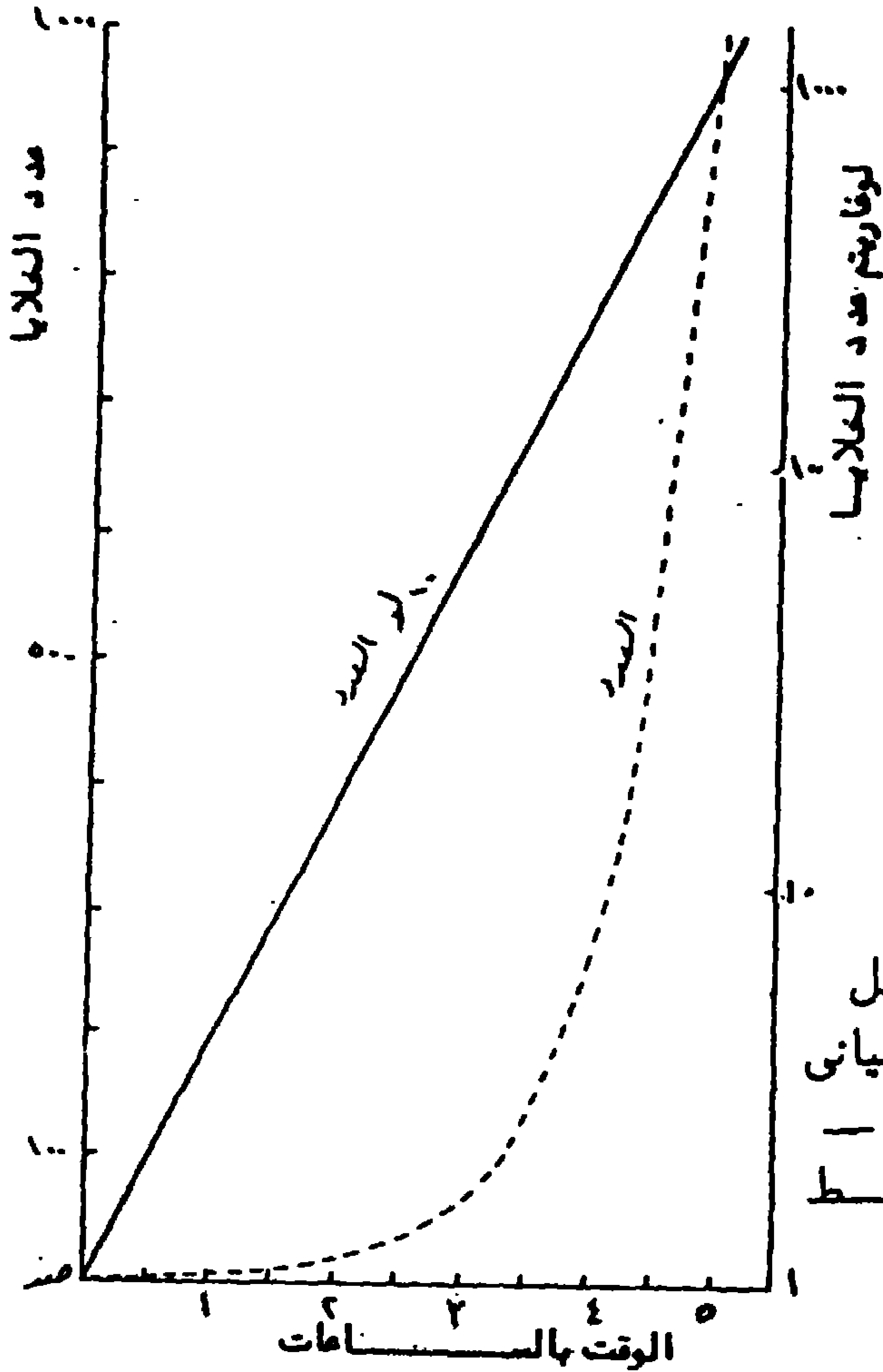
ثانيا : نمو المجتمعات .

ان النمو المتزن للمجتمعات يحدث غالبا عندما يكون النمو لوغاريتميا Exponential ، والنمو اللوغاريتمى يحدث كنتيجة لما يحدث من انقسام خلية الى خليتين ، والخليتين الى أربع خلايا والأربع خلايا الى ثمان خلايا وهكذا ... فكلما انقضت فترة انقسام (الوقت الجيلى Generation time) فان تعداد المجتمع يتضاعف (جدول ١١-٤) فاذا وقعنا

جدول ١١ـ٤ : النمو اللوغاريتمي لمجتمع من خلايا نتجت عن خلية واحدة ذو وقت جيلي (تتضاعف كل) ٣٠ دقيقة ٠

الوقت بالساعات	عدد الخلايا	١٠لو (عدد الخلايا)
صفر	١	صفر
٥ر	٢	٣٠١ر
١ر٠	٤	٦٠٢ر
١ر٥	٨	٩٠٣ر
٢ر٠	١٦	١ر٢٠٤
٢ر٥	٣٢	١ر٥٠٥
٣ر٠	٦٤	١ر٨٠٦
٣ر٥	١٢٨	٢ر١٠٧
٤ر٠	٢٥٦	٢ر٤٠٨
٤ر٥	٥١٢	٢ر٧٠٩
٥ر٠	١٠٢٤	٣ر٠١٠
—	٠	٠
—	٠	٠
—	٠	٠
١٠	١ ر٠٤٨ر٥٧٦	٦ر٠٢١

عدد الخلايا لمجتمع ما من الخلايا أثناء نموها مع الزمن على ورق رسم بياني عادى فاننا نحصل على منحنى تحدث به الزيادة في العدد بطريقة متزايدة ٠ ولكن اذا وقعنا هذه الأعداد بالنسبة للزمن على ورق بيانى شبه لوغاريتمى نحصل على خط مستقيم (شكل ١١ـ٩) ويسمى نمو المجتمع في هذه الحالة نموا لوغاريتميا Exponential growth وهذا النوع



شكل ١١—٩ : معدل النمو الممثل في الجدول ١١—٤ : على ورق بيانى عادى (خط متقطع) وعلى ورق بيانى شبه لوغاريتمى (خط مستمر)...

من النمو يميز نمو الكائنات الدقيقة وحيدة الخلية Unicellular ، ويعرف الوقت الجيلى Generation time أو وقت تضاعف العدد Doubling time بأنه الوقت اللازم لمضاعفة عدد الأحياء الدقيقة . وبالتالى فانه يمكن التعبير عن معدل النمو اما بأنه عدد أوقات تضاعف العدد البكتيرى فى الساعة الواحدة أو الزمن اللازم لتضاعف العدد البكتيرى بالنسبة للمثال الموجود فى جدول (١١—٤) فان وقت تضاعف العدد هو ٣٠ دقيقة ، ويمكن التعبير عنه أيضا بمرات تضاعف العدد / فى الساعة (2 Doubling times/hr) أو أن الساعة بها وقت جيلين 2 Generation/hr .

ويمكن قياس الوقت الجيلي مباشرة من الشكل (١١ـ١٠) بتقديـــر الوقت اللازم لتضاعف العدد ، كما يمكن حساب الوقت الجيلي من المعادلة بمعرفة عدد الخلايا عند وقتين متتاليين :

$$K = \frac{\log_{10} Xt - \log_{10} Xo}{0.301}$$

ثابت معدل النمو معبرا عنه بعدد أوقات التضاعف في وحـــــدة الزمن = K

عدد الخلايا عند الوقت اللاحق = Xt

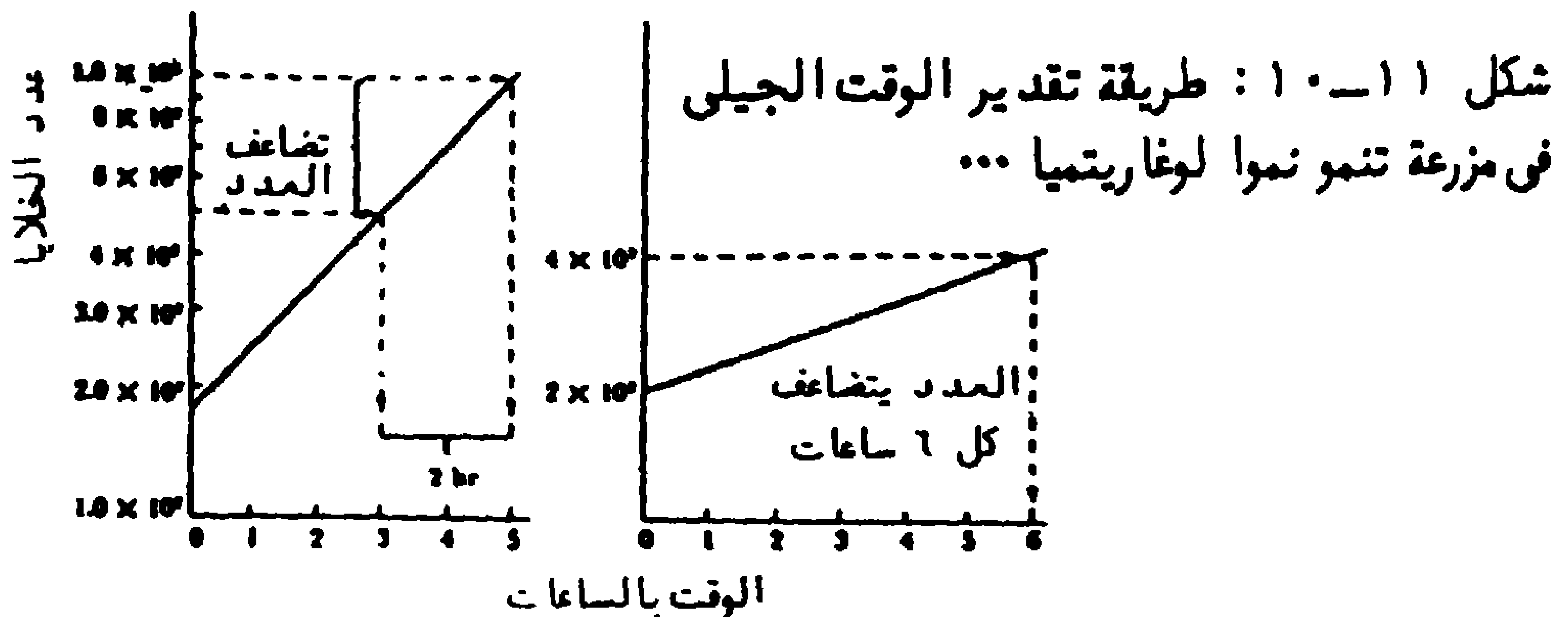
عدد الخلايا عند الوقت السابق = Xo

الوقت الذى ينقضي حتى يرتفع عدد الخلايا من Xo الى Xt = t

الوقت الذى ينقضي لكي يتضاعف عدد الخلايا (الوقت الجيلي) = $\frac{1}{K}$

وأحد أهم خواص النمو اللوغاريتمي هي أن الزيادة في عدد الخلايا تكون صغيرة في البداية وتزداد باستمرار لتكون كبيرة جدا في المراحـــل التالية · ولذلك أهمية صناعية كبيرة ، فمثلا يمكن ترك اللبن غير المعـــقم في المراحل الأولى من النمو اللوغاريتمي لعدة ساعات دون تأثير ملحوظ ، أما في المراحل النهائية من النمو اللوغاريتمي فان ساعة واحدة قد تسبـــب تلف اللبن · وكذلك الحال بالنسبة لكثير من التخمرات الصناعية ·

وعند التعامل مع المجتمعات الميكروبية فاننا عادة نتعامل مـــع أعداد كبيرة بما يصعب كتابة عدد الأصفار · ولتبسيط ذلك فان العامليـن



شكل ١١ــ١٠ : طريقة تقدير الوقت الجيلي في مزرعة تنمو نموا لوغاريتميا ...

فى مجال الأحياء الدقيقة يكتبون الأرقام الأسية للأساس ١٠ ٠ وعلى سبيل المثال فان ١٠^{٦} تساوى ١٠٠٠ر٠٠٠ ويمكن الاشارة الى أن مزرعة تحتوى ٢ر٥ x ١٠^{٨} وهذا يعنى ٢٥٠ر٠٠٠ر٠٠٠ وعند اجراء عمليات الجمع لتلك الأعداد الكبيرة لابد من توحيد الأس فى الأرقام التى تجمع وعلى سبيل المثال :

٢ر٥ x ١٠^{٧} = ٢٥ر٠٠٠ر٠٠٠ = ٢٥ر٠ x ١٠^{٦}

٣ر٠ x ١٠^{٦} = ٣ر٠٠٠ر٠٠٠ = ٣ x ١٠^{٦}

٢ر٨ x ١٠^{٧} = ٢٨ر٠٠٠ر٠٠٠ = ٢٨ x ١٠^{٦}

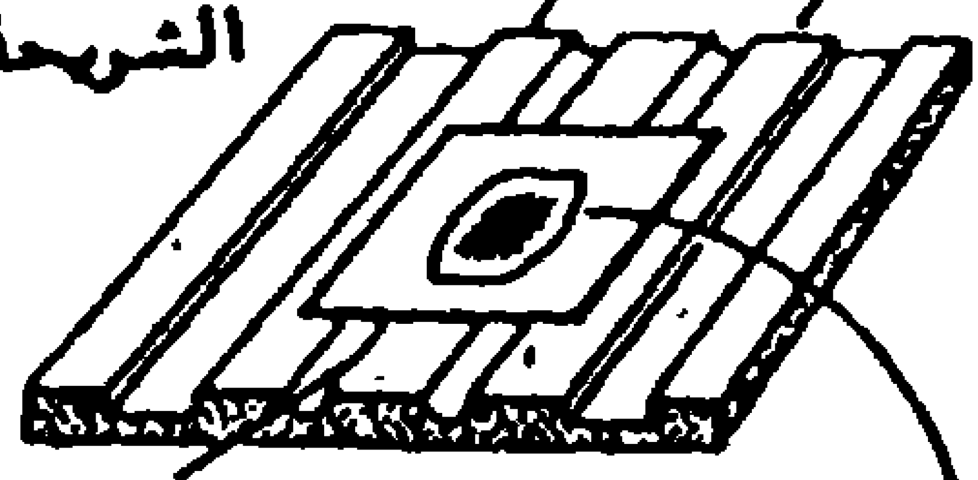
ومن الأفضل دائما عند عمل منحنيات نمو البكتيريا استعمال ورق الرسم البيانى اللوغاريتمى ذو الخمس مراحل Five cycles وهذا يسمح بعمل منحنى يمثل زيادة الأعداد ١٠^{٥} (١٠٠ر٠٠٠) مرة ٠

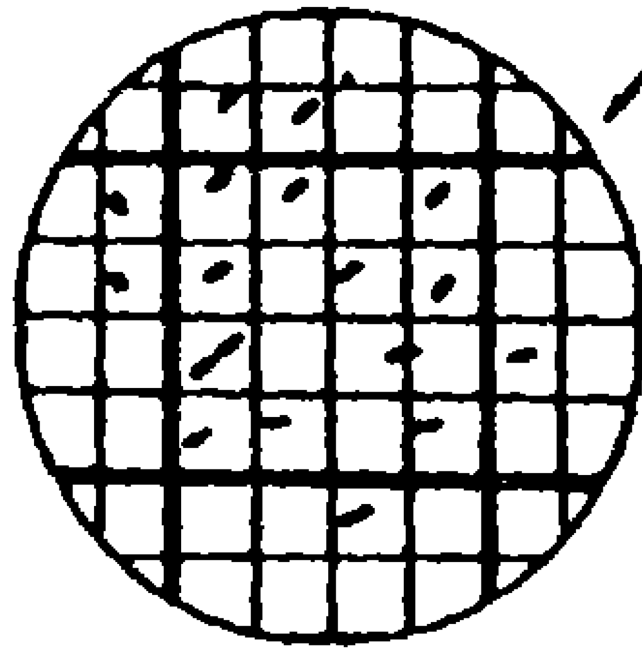
طرق قياس النمو للكائنات الدقيقة :

١ ـ العد المجهرى المباشر : Direct microscopic count

يمكن عد الخلايا البكتيريا فى محلول ما بأخذ عينة منه ذات حجم محدود ... وتعد البكتيريا فى هذا الحجم بواسطة شريحة مقسمة تقسيما خاصا تحت المجهر. والشريحة المستخدمة للعد البكتيرى المباشر هى المعروفة باسم شريحة بيتروف هاوزر ... Peteoff-Hausser أو شريحة الهيموسيتوميتر Hemocytometer.

وتحتوى شريحة بيتروف ـ هاوزر على تجويف خاص ذى حجم محدد يسع ٠٢ر ملليمتر مكعب من العينة ٠ وأرضية هذا التجويف مقسمة الى ٢٥ مربعا كبيرا ٠ ومساحتها ١ ملليمتر مربع ٠ وكل مربع كبير مقسمة الى ١٦ مربع صغير (شكل ١١ ـ ١١) ٠





شكل ١١ــ١١ : لعد البكتيريا فى مزرعة سائلة توضع نقطة صغيرة فى غرفة الشريحة بعناية فائقة . وتسع هذه الغرفة ٠٫٢ ــ مليمتر٢، ثم يوضع غطاء الشريحة وتفحص تحت المجهر ويجرى عد البكتيريا فى عدد من المربعات الكبيرة وليكن ١٢ ــ خلية كما فى الشكل فيكون العدد فى ١ مل = ١٢ × ٢٥ × ٥٠ × ١٠ ^{٣} = ١٫٥ × ١٠ ^{٧} . وتسمى هذه الطريقة للعد بالعد المباشر للبكتيريا باستعمال شريحة بتروف ــ هاوزر .

فتوضع العينة بعناية فى التجويف ثم يوضع غطاء الشريحة بعناية حتى لا تتكون فقاعات هوائية ، وعندما يكون الفراغ بين الشريحة وغطائها مملوءا دون زيادة ، فانه يحتوى على ٠٫٢ ر ملليمتر مكعب من المحلول .

وبفحص الشريحة تحت المجهر يجرى عد البكتيريا فى عدة مربعات كبيرة ويؤخذ المتوسط لعدد البكتيريا فى المربع الكبير الواحد ، وليكن ١٢ خلية وبضرب ١٢ فى عدد المربعات الكبيرة (٢٥) ينتج عدد البكتيريا فى المربعات (٣٠٠) الخمس والعشرون ، وهو يساوى عدد البكتيريا فى ٠٫٢ ر ملليمتر٣ وهو حجم العينة الموضوعة على الشريحة . وبضرب (٣٠٠) فى $\frac{١٠٠}{٢}$ أو ٥٠ ينتج عدد فى ملليمتر مكعب واحد (١٥٠٠٠) .

وحيث أن السنتيمتر المكعب الواحد (سيعتبر مساويا لملليمتر واحد) يساوى ١٠٠٠ ملليمتر مكعب فان ضرب (١٥٠٠٠) × ١٠٠٠ أو (١٠ ^{٣}) ينتج عدد البكتيريا فى المليمتر الواحد من العينة الأصلية = ١٫٥ × ١٠ ^{٧} .. ويمكن تلخيص ذلك فى الخطوة التالية :

عدد البكتيريا فى العينة = متوسط عدد البكتيريا فى المربع الكبير × ٢٥ × ٥٠ × ١٠ ^{٣} وهذه الطريقة ولو أنها سريعة الا أنه يعاب عليها ما يلى :

(١) أنها قليلة الحساسية ، فلا يمكن استخدامها لعد عينات تحتوى على أقل من $١٠^٦$ فى المليمتر الواحد . لأنه عند هذا التركيز يمكن رؤية خلية واحدة فى كل مجال مجهرى .

(٢) ان هذه الطريقة لا تميز بين الخلايا الحية والخلايا الميتة ، وبذلك يتم عد جميع الخلايا الحية والميتة .

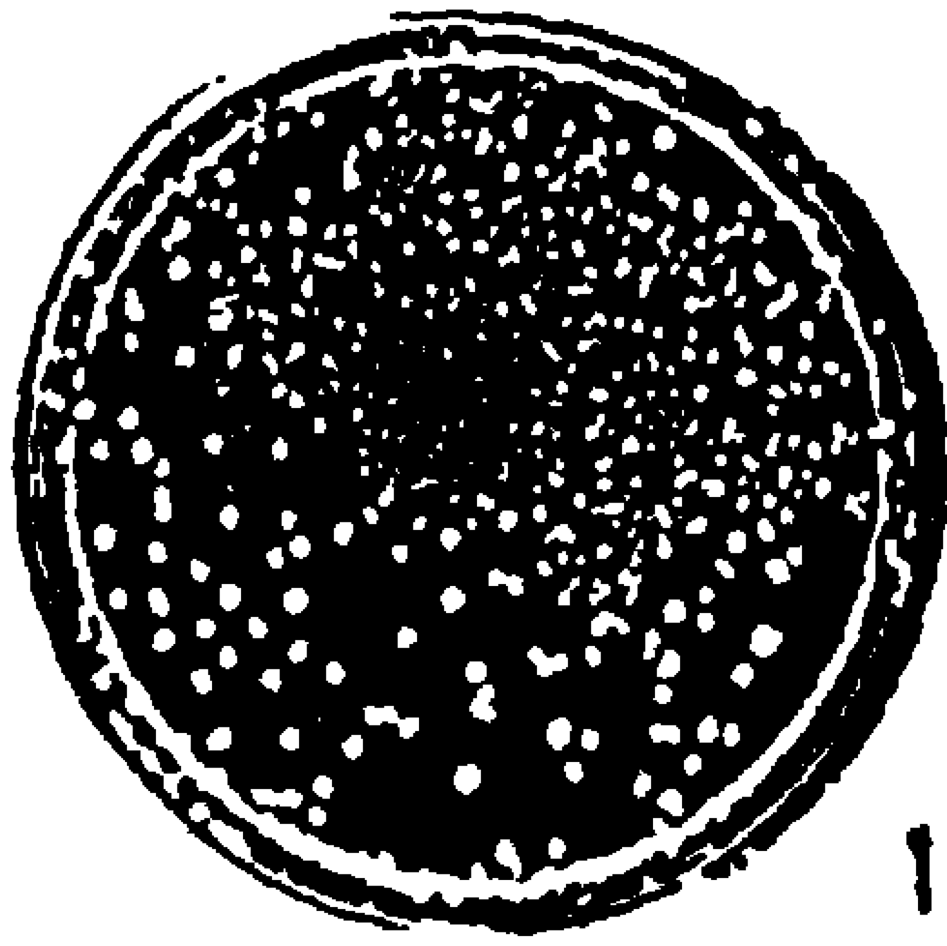
٢- عدد الخلايا الحية : Viable count

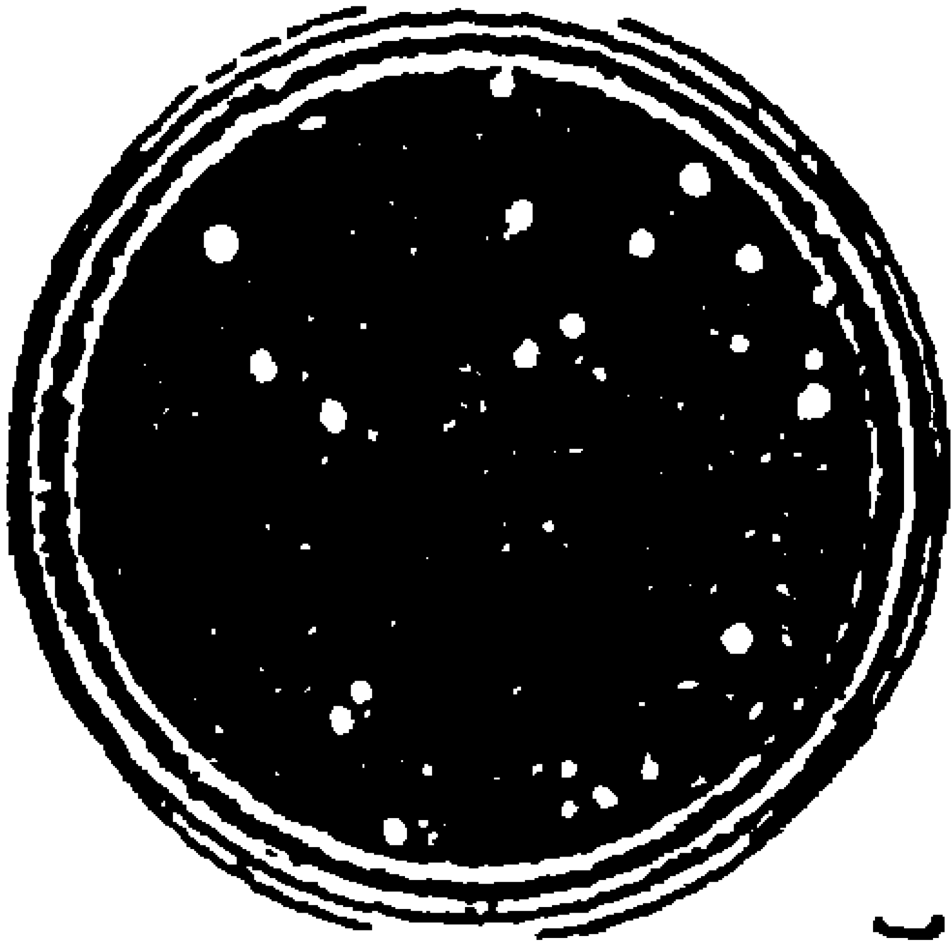
فى كثير من الحالات يكون المرغوب هو عد الخلايا الحية فقط . والخلية الحية هى تلك الخلية القادرة على الانقسام . وعدد الخلايا الحية تعتمد على هذه الخاصية فيجرى عد الخلايا التى تنقسم مكونة مستعمرات Colonies فى أطباق بترى وتسمى هذه الطريقة طريقة عد الأطباق Plate count وهى أكثر الطرق شيوعا لعد الخلايا الحية ، ويوجد منها طريقتان ... وهما :

أ- الفرد على الأطباق Spread plate
ب- صب الأطباق Pour plate

* طريقة الفرد على الأطباق : Spread Plate

وفيها تفرد كمية صغيرة (عادة ١ر ملليمتر) على سطح طبق بترى يحتوى على مستنبت آجار مغذى مناسب ، وتجرى عملية الفرد بواسطة قضيب زجاجى معقم ، ثم تحضن الأطباق على درجة حرارة مناسبة الى أن تظهر المستعمرات للعين ، ويمكن عد المستعمرات على أن كل مستعمرة تمثل خلية واحدة (ولو أن ذلك لا يكون الحال دائما) وبذلك يمكن عد البكتيريا فى العينة الأصلية . شكل (١١-١٢) .


أ


ب

شكل ١١ـ١٢ : شكل وتوزيع المستعمرات فى:
أ ـ الفرد على الأطباق (الأطباق المفرودة) .
ب ـ الصب على الأطباق (الأطباق المصبوبة) وكلا الطبقين يحتوى على بكتيريا القولون E.coli

* **طريقة صب الأطباق : Pour Plate**

وفيها تخلط العينة مع آجار بارد منصهر (لم يتصلب بعد) خلطا جيدا ثم تترك لتتصلب مع الآجار فى أطباق بترى معقمة . لذلك تكون الكائنات الدقيقة مثبتة فى الآجار الصلب وتكون مستعمرات . وفى مثل هذه الطريقة يمكن استخدام حجم أكبر من العينة (١ ملليمتر عادة) . كما يمكن استخدام لعد البكتيريا فى سوائل كثيفة مثل تلك الناتجة عن الأغذية المجنسة فى الخلاط . ولكن من عيوب هذه الطريقة :

١ ـ أن بعض الأحياء الدقيقة تتأثر بالحرارة العالية للآجار عند صب الأطباق .
٢ ـ أن كثيرا من المستعمرات المتحصل عليها تكون صغيرة جدا نتيجة وجودها مغمورة فى الآجار . (شكل ١١ـ١٢ ب) .

وتعتبر طريقة عد الأطباق Plate count طريقة حساسة على

أساس أن كل خلية تعطى مستعمرة ٠ وعلاوة على ذلك فان هذه الطريقة تمكن من اجراء درجة ولو محدودة من التعرف على البكتيريا ٠ فالمستعمرات المتكونة تختلف فى شكلها وحجمها ولونها وقوامها وارتفاعها وحافتها ..... الخ ٠ ويمكن بهذه الخواص اجراء تعرف محدود على أنواع البكتيريا الموجودة فى العينة ٠ كما يمكن استخدام نفس الأطباق لالتقاط مستعمرات منفصلة تمهيدا لتنقيتها ٠ ولذلك يجب أن يكون عدد المستعمرات على الأطباق متوازنا (بين ٣٠ــ٣٠٠ مستعمرة على الطبق الواحد) حتى لا تزيد نسبة الخطأ فى العد أو فى التخفيف ٠ لذلك عند عد البكتيريا فى معلقات تحتوى على أعداد كبيرة فان ذلك يتطلب اجراء تخفيفات مناسبة مما قد يكون مصدرا للخطأ ٠

وتوجد طرق أخرى كثيرة لتقدير عدد الخلايا الحية منها :

طريقة العدد الأكثر احتمالا :

اذا كانت طريقة عد الأطباق بالآجار غير قابلة للاستعمال فى حالات خاصة فان طريقة أخرى لعد البكتيريا فى المستنبتات السائلة يمكن استعمالها ، وهى طريقة العدد الأكثر احتمالا most probable (MPN) number حيث تخفف العينة المطلوب عد البكتيريا فيها تخفيفا شديدا فى أنابيب متعددة ، واذا أجرى التخفيف بطريقة سليمة فان عددا من الأنابيب سيتسلم خلية واحدة وعددا من الأنابيب لن يصله أى خلايا ، وعند تحضين الأنابيب فان الأنابيب التى تحتوى خلية سيظهر بها نمو ، أما الأنابيب التى لا تحتوى على خلايا لن يظهر بها نمو ، أما اذا كانت العينة لم تخفف تخفيفا كافيا فان كل الأنابيب سيظهر بها نمو بعد التحضين ٠٠ أما اذا خففت العينة أكثر من اللازم فان أيا من الأنابيب لن يظهر به نمو ٠ وفى الطريقة العادية تحقن مجموعات من خمسة أنابيب بكميات قدرها ١ مل من تخفيفات متتالية ٠ وبعد التحضين تؤخذ مجموعات الأنابيب التى تمثل تخفيفا معينا ويظهر بها أنابيب موجبة وأنابيب سالبة ، ويمكن بعد ذلك الرجوع الى جدول احصائى (جدول ١١ــ٥) لمعرفة

العدد الأكثر احتمالا في العينة . وقد سبق الاشارة الى أساس هذه الطريقة في الفصل الثالث.

جدول ١١ـ٥ لقحت كلا من خمسة أنابيب بكميات قدرها ١ مل من ثلاث تخفيفات متتالية (كلا منها $\frac{1}{10}$ التخفيف السابق له) بعد التحضين سجلت الأنابيب التي ظهر بها نمو من كل تخفيف.

والجدول التالي يعطي العدد الأكثر احتمالا في ١ مل من التخفيف الأول . وفي الجدول يوجد مثالين يوضحان طريقة استخدام الجدول ...

10^{0}	10^{-1}	10^{-2}	MPN	10^{0}	10^{-1}	10^{-2}	MPN	أمثلة
صفر	١	صفر	١٨ر	٥	صفر	صفر	٢ر٣	مثال ١ : لقحت خمسة أنابيب بواحد مل من كلا من التخفيفات ١٠ صفر ، ١٠-١ ، ١٠-٢ من عينة حليب مبستر . بعد التحضين ظهر النمو في جميع أنابيب من التخفيف ١٠ صفر وظهر نمو في ثلاث أنابيب من التخفيف ١٠-١ ولم يظهر نمو في أي من أنابيب التخفيف ١٠-٢ فيكون العدد الأكثر احتمالا في ١مل من عينة الحليب المبستر (وفي الجدول) = ٧ر٩ . مثال ٢ : لقحت خمسة أنابيب بواحد مل من كل من التخفيفات ١٠-٢ ، ١٠-٣ ، ١٠-٤ ، ١٠-٥ من عينات الحليب الخام ، وبعد التحضين . ظهر نمو في ٥ أنابيب من التخفيف ١٠-٣ وظهر نمو في أنبوبتين من التخفيف ١٠-٤ وظهر نمو في أنبوبة واحدة فقط من التخفيف ١٠-٥ وبذلك يكون العدد الأكثر احتمالا في عينة الحليب = ٢ر٦ × ١٠ ٣ (وفي الجدول) ...
١	صفر	صفر	٢٠ر	٥	صفر	١	٣ر١	
١	١	صفر	٤٠ر	٥	١	صفر	٣ر٣	
٢	صفر	صفر	٤٥ر	٥	١	١	٤ر٦	
٢	صفر	١	٦٨ر	٥	٢	صفر	٤ر٩	
٢	١	صفر	٦٨ر	٥	٢	١	٧ر٠	
٢	٢	صفر	٩٣ر	٥	٢	٢	٩ر٥	
٣	صفر	صفر	٧٨ر	٥	٣	صفر	٧ر٩	
٣	صفر	١	١ر١	٥	٣	١	١١ر٠	
٣	١	صفر	١ر١	٥	٣	٢	١٤ر٠	
٣	٢	صفر	١ر٤	٥	٤	صفر	١٣ر٠	
٤	صفر	صفر	١ر٣	٥	٤	١	١٧ر٠	
٤	صفر	١	١ر٧	٥	٤	٢	٢٢ر٠	
٤	١	صفر	١ر٧	٥	٤	٣	٢٨ر٠	
٤	١	١	٢ر١	٥	٥	صفر	٢٤ر٠	
٤	٢	صفر	٢ر٢	٥	٥	١	٣٥ر٠	
٤	٢	١	٢ر٦	٥	٥	٢	٥٤ر٠	
٤	٣	صفر	٢ر٧	٥	٥	٣	٩٢ر٠	
				٥	٥	٤	١٦٠	

Standard methods for the examination of water and waste water 14th ed. 1979. American Public Health Association Washington, D.C.

٣ ـ تقدير الكتلة الميكروبية :

فى كثير من الدراسات وخاصة الدراسات الكيميائية الحيوية Biochemical studies يكون المطلوب هو دراسة الكتلة وليس العدد . ويمكن قياس الكتلة بأخذ حجم معين من المستنبت والحصول على الخلايا منه بالطرد المركزى ثم غسيل الخلايا ووزنها رطبة أو تجفيفها ووزنها وتكرار هذه العملية على أوقات متقطعة فنحصل على الوزن الجاف أو الرطب عند أوقات مختلفة أثناء النمو . والوزن الجاف يكون عادة بين ٢٠ ـ ٢٥٪ من الوزن الرطب للخلايا . وتقدير الكتلة ـ علاوة على أنه طريقة بطيئة ـ فانها غير حساسة فان كل ١ ملليجرام من الوزن الجاف للبكتيريا يمثل حوالى ٥ بليون خلية تقريبا .

ويمكن قياس وزن الخلية الواحدة بوزن عدد كبير من الخلايا ثم قسمة الوزن على العدد . ويتراوح الوزن الجاف للخلية البكتيرية بين $١٠^{-١٥}$ الى $١٠^{-١١}$ جرام بينما يتراوح وزن الخلية الجافة فى الأحياء الدقيقة ذات النواه الحقيقية بين $١٠^{-١١}$ الى $١٠^{-٧}$ جرام .

وفى المعلقات الكثيفة للأحياء الدقيقة يمكن قياس درجة تعكير المعلق على فترات زمنية مختلفة للتعرف على معدل النمو . ودرجة التعكير تعبر عن الكتلة أكثر من تعبيرها عن عدد الخلايا .

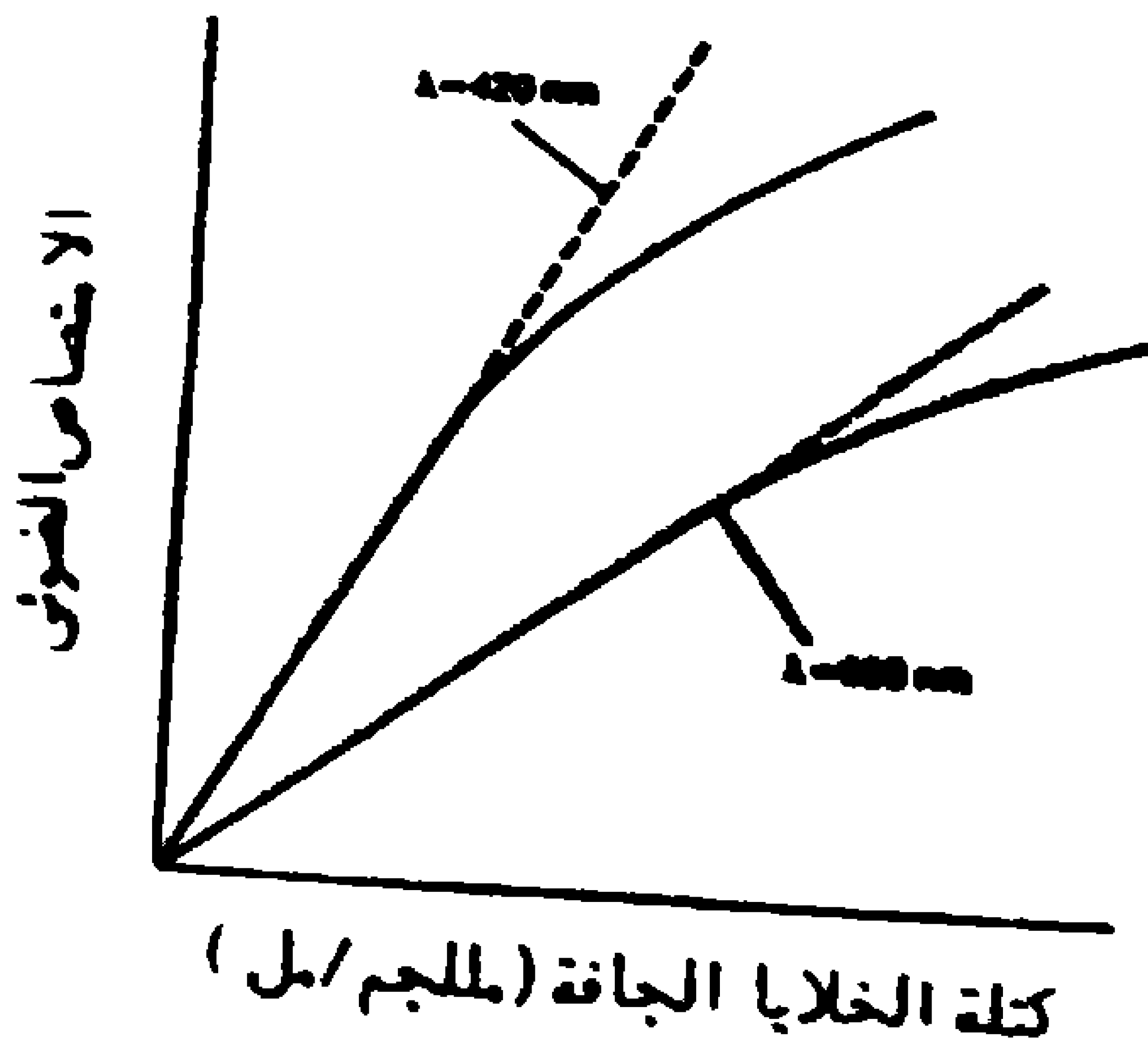
ورغم أن قياس العكارة سهل وسريع ولا يلزم معه قتل المزرعة أو الخلايا الا أنه ليس حساس ، فالمعلقات البكتيرية التى تحتوى على عدد يقل عن $١٠^{-٧}$ خلية / الملليمتر الواحد تكون رائقة ولا يظهر بها عكارة واضحة ... لذلك فهذه الطريقة تصلح عندما تزيد الأعداد عن ذلك ($١٠^{-٧}$ خلية / الملليمتر) . وتعتمد هذه الطريقة على أن الأجسام الصغيرة تشتت الضوء الواقع عليها ، وعند وجود عدد كبير من الأجسام (الخلايا) فى مسار شعاع فان كمية كبيرة من الضوء الساقط على المعلق تتشتت نتيجة سقوطة على هذه الأجسام ، ولكن اذا كان عدد الأجسام (الخلايا فى هذه الحالة قليلا) فان كمية الضوء المتشتت تكون صغيرة ، وبذلك فان هناك علاقة طردية بين كثافة المعلق البكتيرى والضوء المتشتت

... والجهاز المستخدم لقياس النمو عن طريق تسليط مسار من الأشعة على معلق بكتيرى يسمى الاسبكتروفوتوميتر Spectrophotometer والجهاز جهز لكي يقرأ درجة امتصاص الضوء Absorbancy (A)، وتعرف درجة امتصاص الضوء على أنها لوغاريتم نسبة الضوء الساقط على العينة Io على الضوء النافذ I من العينة .

$$A = \log \frac{Io}{I}$$

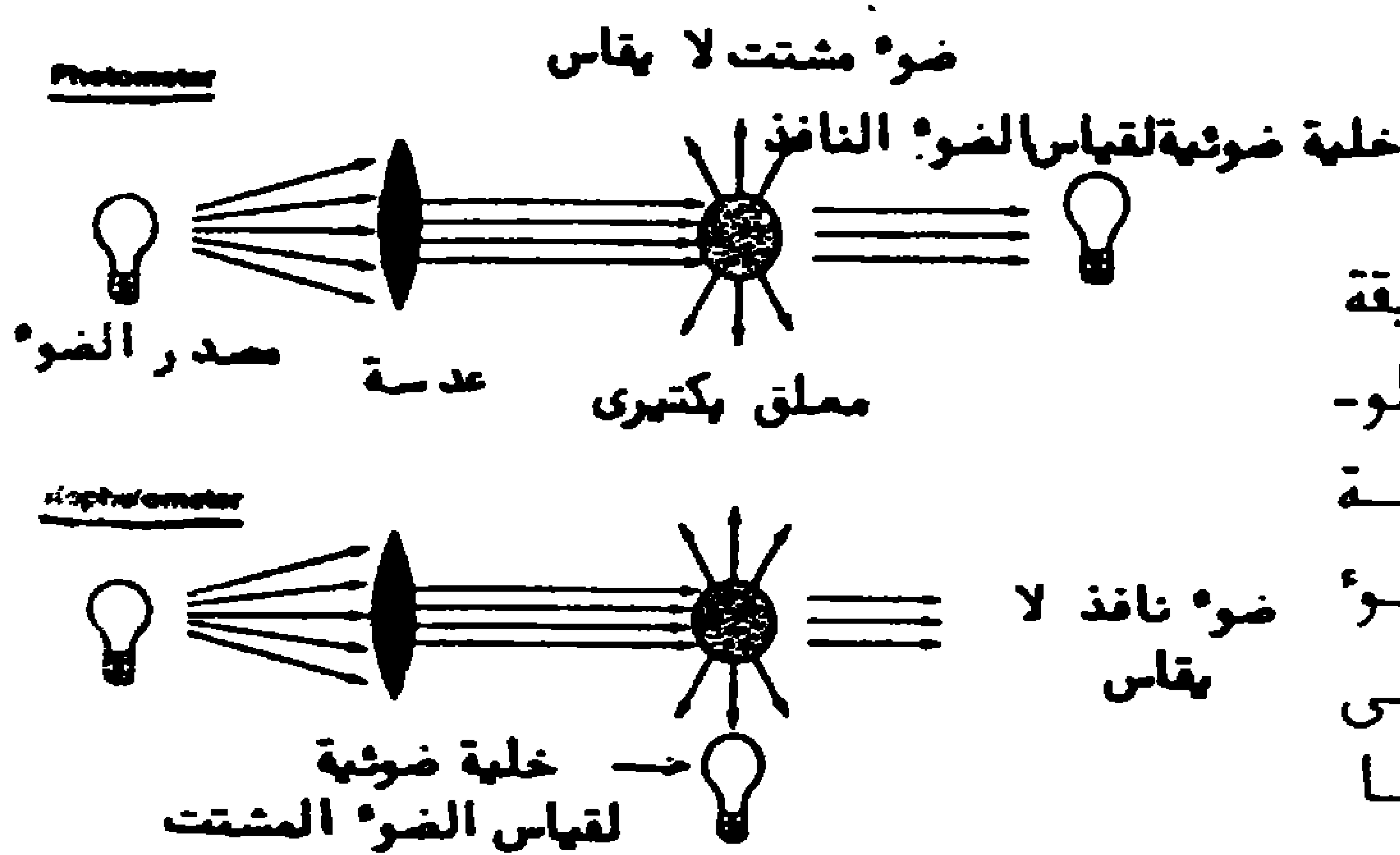
وعند اجراء القياس بهذه الطريقة ، فمن الضروري وجود منحنى قياسى Standard curve لنمو مزرعة معينة يعد بتوقيع احداثيات درجة الامتصاص الضوئى عند طول موجى معين مع الوزن الجاف للخلايا (شكل ١١ـ١٣) .

وعند أخذ درجات الامتصاص الضوئى أثناء قياس معدلات النمو يمكن معرفة الوزن الجاف مباشرة من المنحنى القياسى ... والملاحظ أن اجراء القياسات عند طول موجى قصير (٤٢٠ نانوميتر) يكون أكثر حساسية (شكل ١١ـ١٣) ولكن علاقة الخط المستقيم فيه تنحرف سريعا عندما يصل عدد الخلايا الى ١٠ مليون خلية فى المليمتر الواحد ($١٠^{٧}$) ، ولذلك أحيانا يعمل منحنيان قياسيان أحدهما باستعمال أشعة ذو طول موجى قصير (٤٢٠ نانوميتر) والآخر باستعمال أشعة ذو طول موجى أطول نسبيا (٦٥٠ نانوميتر) .



شكل ١١ـ١٣ : العلاقة بين الامتصاص الضوئى لمعلق بكتيرى وكتلة الخلايا فى هذا المعلق . تكون العلاقة خطية عند درجات امتصاص ضوئى منخفضة كما أن القياس على طول موجى ٤٢٠ـ أكثر حساسية منه على طول موجى ٦٥٠ نانوميتر .

وقد ابتكر حديثا جهاز جديد لقياس كمية الضوء المشتتة (بدلا من كمية الضوء النافذة في الاسبكتروفوتوميتر) ويسمى النفلوميتر Nephelo-meter · ويوضح شكل (١١ـ١٤) الاختلافات في أساس عمل كلا من الاسبكتروفوتوميتر والنفلوميتر ·



شكل ١١ـ١٤ : مقارنة بين طريقة القياس الاسبكتروفوتوميتر والنفلوميتر · وتعتمد حساسية النفلوميتر على قياس الضوء المتشتت عن المعلق وليس على قياس المتبقي من الضوء كما في حالة الفوتوميتر ·

٤ـ عد البكتيريا التي تمر خلال ثقب صغير باستعمال التيار الكهربائي :

الجهاز المستخدم في هذه الطريقة يسمى عداد كولتر Coulter counter نسبة لمخترعه ويستخدم لقياس عدد البكتيريا في معلق منها بامرارها خلال ثقب صغير (قطره حوالي ٣٠ ميكروميتر) تحت ضغط تيار كهربائي نظرا لأن الخلايا البكتيرية تحمل شحنات سالبة · ويعمل هذا الثقب أيضا على اكمال دائرة كهربائية عن طريق الوسط المعلق فيه الخلايا البكتيرية · فعندما يكون السائل فقط هو الموجود في فتحة الثقب يكون التوصيل الكهربي عالي وعندما تمر خلية خلال الثقب ينخفض التوصيل الكهربي ويسجل هذا الانخفاض بالطرق الالكترونية · ويستطيع هذا الجهاز تسجيل الانخفاض في التوصيل ومداه ومدى حدوثه بالنسبة للوقت، ويمكن بذلك تقدير عدد البكتيريا وحجمها وتوزيعها في المعلق، ولذلك يجب أن يكون السائل المعلق فيه البكتيريا نظيف تماما وخالي من أي أتربة

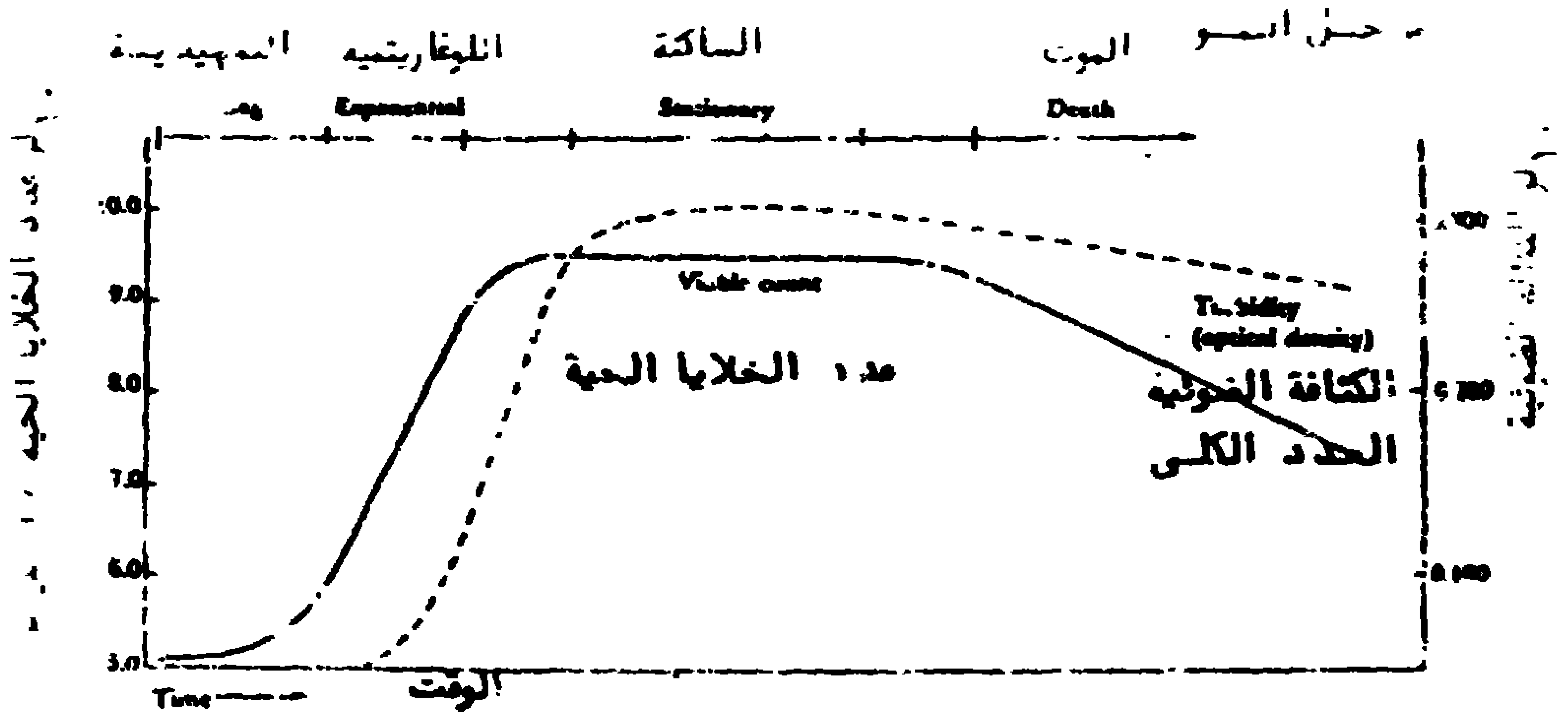
مهما صغرت جزئياتها ، فالجزئيات الصغيرة ستؤدى الى التسجيل لخلايا ... أما الجزيئات الكبيرة فتسد فتحة الثقب .

تقدير النمو عن طريق تقدير أيا من مكونات الخلية :

يمكن قياس النمو فى أى مزرعة بكتيرية عن طريق قياس أحد مكونات الخلية مثل البروتين أو الببتيد وجليكان أو أيا من الحمضين النوويين المعروفين RNA و DNA أو أى صفة أخرى مثل تقدير كمية أى نشاط أنزيمى خلوى على أوقات مختلفة . وعندما يكون النمو متزنا فإن الزيادة فى أى من هذه المكونات يتناسب تماما مع الزيادة فى العدد أو فى وزن الخلايا .

دورة النمو فى المجتمعات الميكروبية :

إن معظم الأحياء الدقيقة تمر أثناء نموها فى مجتمعات فى مراحل محددة تسمى المرحلة التمهيدية (التجهيزية) lag phase يليها المرحلة اللوغاريتمية Exponential phase يليها مرحلة الساكنة Stationary phase ويليها مرحلة الموت Death phase (شكل ١١ ـ ١٥) .



شكل ١١ ـ ١٥ : منحنى نمو لمجتمع من البكتيريا ـ الخط المستمر يعبر عن أعداد الخلايا الحية والخط المتقطع يعبر عن الأعداد الكلية للبكتيريا (بما فى ذلك الخلايا الحية والميتة) حيث أن قياس درجة التعكير للمعلق البكتيرى تنتج على كل الخلايا وليس على الخلايا الحية فقط .

(١) المرحلة التمهيدية : Lag phase

عند ما تحقن مزرعة ميكروبية فى مستنبت جديد فان النمو لا يبدأ فى الحال ولكن النمو يبدأ بعد فترة زمنية تسمى المرحلة التمهيدية ٠ ويختلف طول المرحلة التمهيدية أو المرحلة التحضيرية lag phase على حسب عمر الخلايا ٠ فاذا كانت الخلايا منقولة من مزرعة نشطة فى مرحلة النمو اللوغاريتمى من مستنبت مماثل للمستنبت الجديد فانه لا يمكن تمييز المرحلة التمهيدية ٠٠٠ أما اذا كان المستنبت الجديد أفقر فى عناصره الغذائية من المستنبت الأصلى للمزرعة ، فان الخلايا تحتاج بعض الوقت لبناء بعض المكونات الغير متوفرة فى المستنبت الجديد ٠ أما اذا كانت الخلايا مأخوذة من مزرعة فى المرحلة الساكنة Stationary phase فانها تحتاج بعض الوقت أيضا يختلف بطول فترة المرحلة الساكنة السابقة ٠ ويرجع ذلك لاحتياج الخلية لبناء النقص من بعض المركبات الخلوية مثل بعض الانزيمات ومرافقاتها وغيرها ، وكذلك التخلص من بعض الفضلات التى تراكمت فى الخلية أثناء فترة السكون ٠

(٢) المرحلة اللوغاريتمية (مرحلة النمو اللوغاريتمى)

Exponential phase

لقد نوقش النمو اللوغاريتمى فيما قبل ويحدث نتيجة لتضاعف الخلايا بعد كل وقت جيلى وتحت الظروف المثلى Optimal conditions ٠ تختلف معدلات النمو للأحياء الدقيقة المختلفة اختلافا كبيرا بعوامل فيما يبدو أنها عوامل وراثية بالدرجة الأولى ، ولكن على أى حال فان البكتيريا (الأحياء الدقيقة ذات النواه البدائية) بصفة عامة تتكاثر أسرع من الأحياء الدقيقة ذات النواه الحقيقية ٠ كما تختلف معدلات النمو لأى نوع معين من الكائنات الدقيقة باختلاف ظروف النمو مثل تركيب مستنبت النمو ، ففى المستنبتات الغنية يكون النمو أسرع منه فى المستنبات الفقيرة حيث يجب على الخلايا فى الحالة الأخيرة بناء كثير من المكونات التى يمكنها الحصول عليها مباشرة من الوسط فى حالة المستنبتات الغنية ٠

كما تختلف معدلات النمو باختلاف درجات حرارة الوسط أو درجة الحموضة أو وجود مواد كيميائية معينة ·

(٣) المرحلة الساكنة : Stationary phase

فى وعاء أى مزرعة مغلقة لا يمكن للمرحلة اللوغاريتمية للنمو أن تستمر الى ما لا نهاية · والسبب فى ذلك واضح لو فكرنا فى النتائج المترتبة على النمو اللوغاريتمى لمزرعة بكتيرية بعد ٤٨ ساعة فقط من بدء النمو بخلية بكتيرية واحدة تنقسم كل (٢٠) دقيقة فانه فى مثل هذه الحالة فان هذه الخلية ستنتج بعد ٤٨ ساعة فقط كمية من الخلايا وزنها ٢ر٢ × ١٠ ^٣١^ جرام وهذا يعادل وزن الكرة الأرضية ٤٠٠٠ مرة · وذلك ليس ممكنا بالطبع ··· اذ يستحيل توفير العناصر المغذية للحصول على هذا النمو كما أن النواتج الثانوية للنمو يصعب التخلص منها أيضا ·

لذلك فان نمو المجتمعات البكتيرية يكون مقيدا بانتهاء العناصر الغذائية من البيئات الطبيعية أو الصناعية (المستنبتات) أو يكون مقيدا بتراكم المخلفات الناتجة عن النمو مثل الأحماض العضوية والكحولات وغيرها التى يكون لها تأثير سام أو مثبط للنمو · وكنتيجة لذلك ينخفض معدل النمو الى أن يتوقف تماما ، وعند ذلك يقال أن المزرعة فى حالة سكون Stationary phase · وفترة الانتقال من مرحلة النمو اللوغاريتمى الى المرحلة الساكنة تشمل فترة من النمو غير المتزن تبنى خلالها المكونات الخلوية المختلفة بمعدلات مختلفة ، فبعض المواد تبنى بكميات كبيرة وبعضها يبنى بكميات صغيرة ، ولذلك فالخلايا فى المرحلة الساكنه يختلف تركيبها الكيميائى عن الخلايا فى المرحلة اللوغاريتمية ، ويختلف التركيب الكيميائى للخلايا فى المرحلة الساكنة بناء على العامل المحدد Limiting factor للنمو · ولكن يمكن بصفة عامة القول أن الخلايا فى المرحلة الساكنة تكون أصغر من الخلايا فى المرحلة اللوغاريتمية ، كما انها تكون أكثر مقاومة للظروف الغير مناسبة مثل الحرارة والبرودة والجفاف ·

(٤) مرحلة الموت: Death phase

اذا استمر التحضين بعد وصول المزرعة الي مرحلة السكون فان الخلايا قد تبقى حية، ولكن كثيرا ما تبدأ مرحلة أخرى تسمى مرحلة الموت، وفي هذه المرحلة قد لا يلاحظ نقص في العد المجهرى المباشر، ولكن يلاحظ نقص واضح بطيء في عدد الخلايا الحية. وفي بعض الحالات التي يكون الموت فيها مصحوبا بتحلل الخلايا فانه يلاحظ أيضا نقص في العد المجهرى المباشر أثناء هذه المرحلة.

والموت يشبه النمو، فكلاهما يتم بطريقة لوغاريتمية. ويختلف معدل الموت باختلاف الوسط وباختلاف الأحياء الدقيقة نفسها، فبكتيريا القولون لها معدل موت بطيء اذا قورنت ببعض البكتيريا العصوية Bacilli الأخرى.

كفاءة النمو Efficiency of Growth

يمكن قياس كفاءة النمو لكائن ما على عنصر غذائي بقياس ناتج النمو Growth yield لهذا الكائن الدقيق الناتج عن استخدام تركيز معين (كعامل محدد للنمو) من هذا العنصر الغذائي. ويمكن حساب ناتج النمو من المعادلة التالية:

$$\gamma = \frac{X - X_o}{C}$$

γ = Growth yield ناتج النمو

X = كتلة الخلايا عندما تدخل في مرحلة السكون

X_o = كتلة الخلايا المستخدمة في تلقيح المستنبت

C = تركيز العنصر الغذائي المستخدم كعامل محدد للنمو.

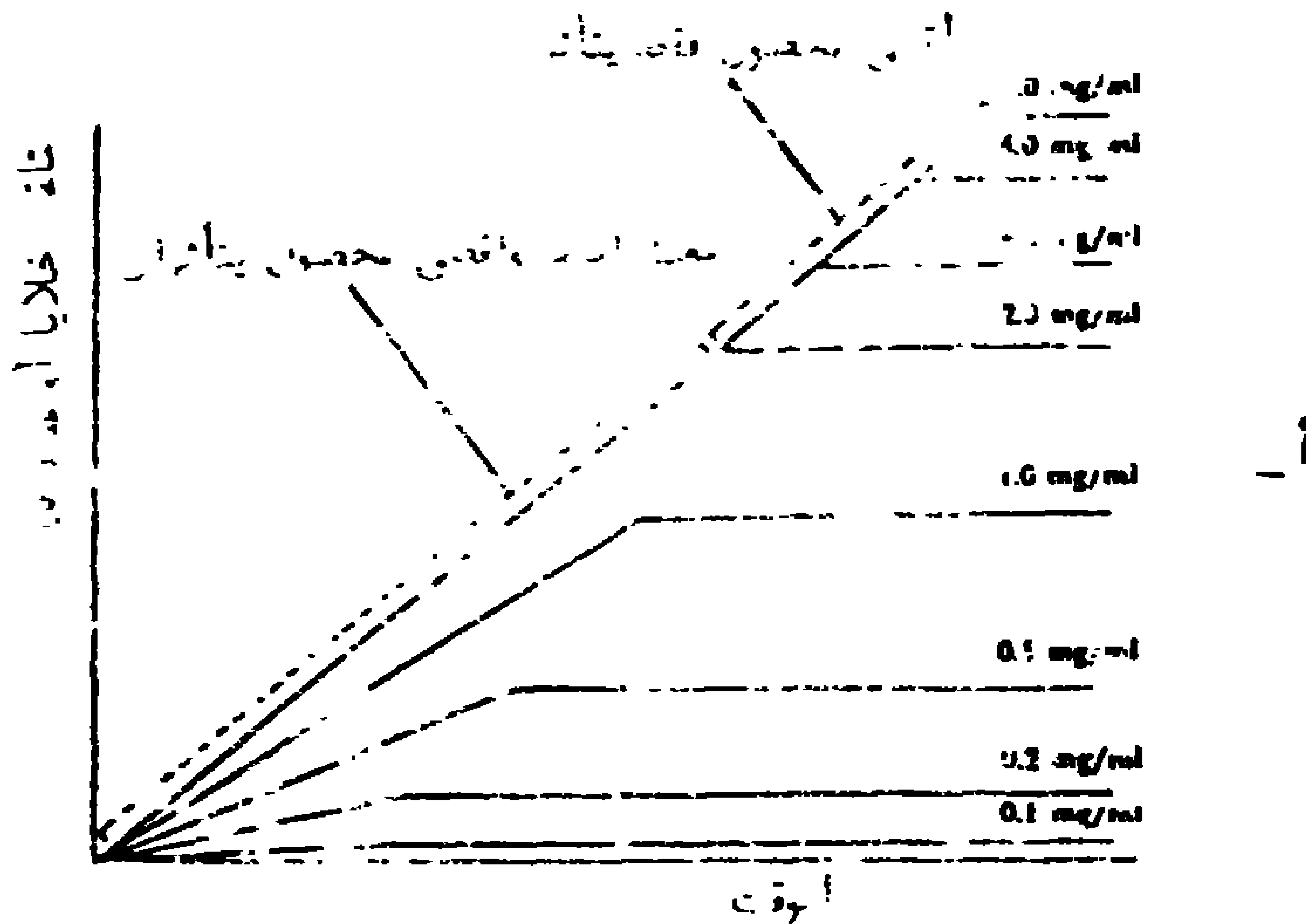
ويمكن قياس ناتج النمو لأي عنصر غذائي. وهو قيمة ثابتة يمكن استخدامه لمعرفة التركيز المجهول لهذا العنصر في وسط ما بقياس كمية

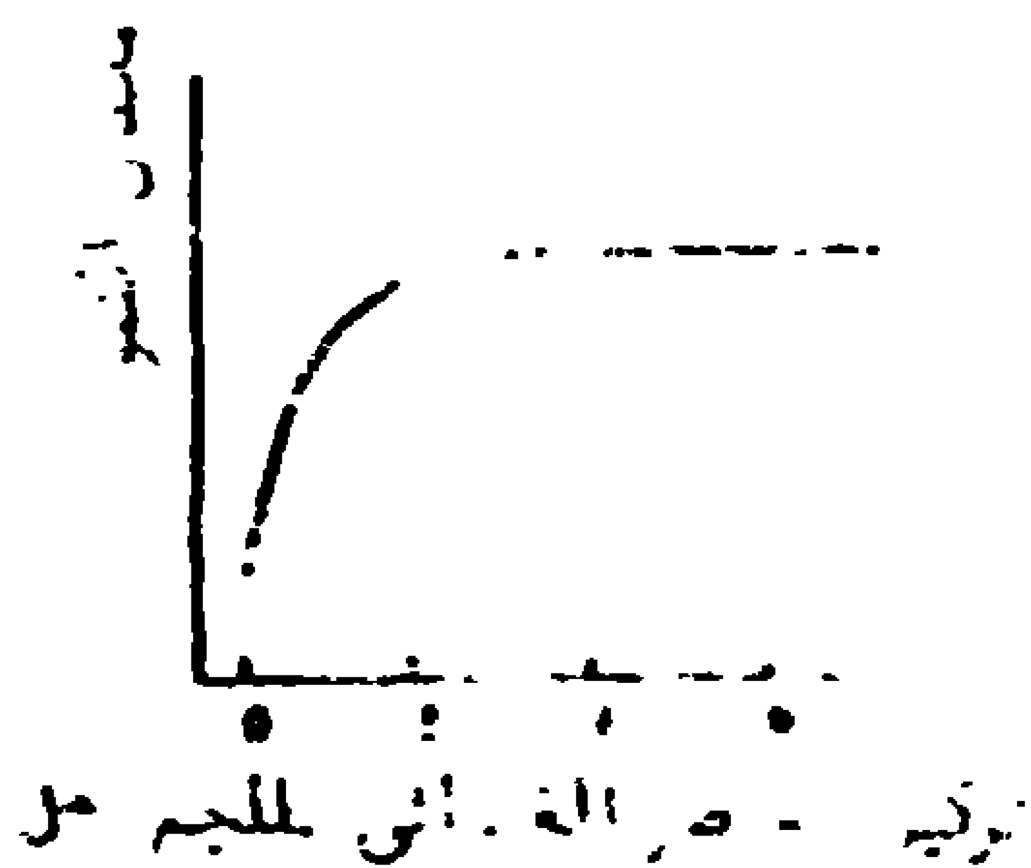
الخلايا النامية الناتجة عن هذا التركيز المجهول (طالما كان هو العامل المحدد للنمو) ٠

وتعرف هذه الطريقة لتقدير تركيز العناصر الكيميائية باسم التقدير الحيوى Bioassay . وفي الماضي كانت هذه الطريقة تستخدم بكثرة لتقدير تركيز الأحماض الأمينية والفيتامينات في المواد الغذائية ٠ ولكن حاليا فان الطرق الكيميائية والطبيعية لتقدير هذه العناصر الغذائية أصبحت أكثر شيوعا ٠ ولكن أساس التقدير الحيوى مازال وسيلة بحثية هامة لتقدير المركبات المؤثرة في النمو ٠ ولاجراء التقدير الحيوى لعنصر ما فانه لابد من وجود كائن حي دقيق يحتاج بصفة أساسية لهذا المركب ٠ ثم يجهز مستنبت مكتمل من جميع العناصر الغذائية ، الا هذا العنصر فيضاف بكميات تجعله عاملا محددا للنمو ٠

ويؤثر تركيز العنصر على معدل النمو وعلى ناتج النمو Growth yield وعند وجود هذا العنصر بتركيزات منخفضة فان معدل النمو يكون منخفضا ، ويزداد معدل النمو بزيادة تركيز هذا العنصر حتى يصل الى حد لا يزيد بعده معدل النمو ... ولكن ناتج النمو يستمر في الزيادة على حسب التركيز (شكل ١١ــ١٦) بشرط ألا تكون زيادة التركيز عامل مثبط للنمو ٠ وعندما يتوقف معدل النمو عن الزيادة بزيادة العامل المحدد فان عاملا آخرا في الواقع يصبح محددا للنمو ٠ أما تأثير التركيز على ناتج النمو فهو سهل الفهم اذ أن العنصر يتحول الى مواد خلوية بنسبة ثابتة ٠ وعلى سبيل المثال فاننا اذا نظرنا الى ناتج النمو للبكتيريا الهوائية الاجبارية Pseudomonas النامية على مستنبت صناعي Synthetic medium يحتوى على الفركتوز كعامل محدد للنمو كمصدر وحيد للكربون والطاقة فان المنحنى المتحصل عليه يوضح أن ناتج النمو من الفركتوز يكون حوالى ٤ ر تقريبا على اعتبار ان محتوى كلا من الفركتوز والمادة الخلوية من الكربون هو ٤٠٪ ، ٥٠٪ على التوالي ٠ وبسهولة يمكن التوصل الى أن نصف الفركتوز يتحول الى مواد خلوية بينما النصف الآخر تقريبا يتحول الى ثاني أكسيد الكربون أثناء انتاج الطاقة ٠ وقد أوضحت الدراسات أن عددا آخرا من البكتيريا الهوائية الاجبارية تستطيع تحويل كربون السكريات المختلفة

الى كربون المادة الخلوية بكفاءة تحويل من ٢٠ الى ٣٠٪ وهـــــذه الاختلافات تعكس الفروق في كفاءة الخلايا على انتاج المركبات الغنيـــــة في الطاقة مثل ATP أثناء عمليات التمثيل الغذائي .





شكل ١١ـ١٦ العلاقة بين تركيز العنصر المغذي ومعدل النمو . أ ـ منحنيات النمو عند تركيزات مختلفة من العنصر المغذي . عند تركيزات منخفضة تأثر معدل النمو وناتج الخلايا . ب ـ تأثير تركيز العنصر المغذي على معدل النمو .

وعند نمو بعض الأحياء الدقيقة جيدة التخمر في مستنبتـــــات غنية مزودة بعناصر مشعة لتتبع الجزيئات في الخلية وجد أن هذه الكائنات لا تحول كربون السكريات الى مواد خلوية الا بنسبة ضئيلة جدا ومعظـــم المواد الخلوية تتكون من العناصر الموجودة طبيعيا في المستنبـــــــت (كالأحماض الأمينية والقواعد النيتروجينية مختلفة وغيرها) بينما تستعمـل المادة القابلة للتخمر كمصدر للطاقة فقط . وحيث أن ناتج الـ ATP مــــن

مسارات التخمرات المختلفة معروف (فمثلا يؤدى تخمر السكريات السداسية خلال مسار ايمبدن ــ ما يرهوف Embden-Meyerhof pathway الى انتاج ٢ مول ATP من كل مول سكر عند التخمر مثل ما يحدث فى التخمر بالخميرة ــ بينما يؤدى تخمر السكريات السداسية خلال مسار انتنرد ودوروف Entner-Doudoroff pathway الى انتاج مول واحد من الـ ATP من كل مول سكر عند التخمر) وحيث أن ناتج المادة الخلوية الجافة الناتجة من كل مول ATP أيضا معروفة (المول الواحد من ATP ينتج حوالى ١٠ جم تقريبا من المادة الخلوية الجافة فى معظم البكتيريا) فانه يمكن حساب كميات الخلايا الناتجة عن استخدام سكر من السكريات اذا علمنا أى المسارات تتبع لتخمير هذا السكر فى كل نوع من أنواع الأحياء الدقيقة.
فالبكتيريا Zymomonas mobilis تخمر الجلوكوز الى كحول خلال مسار انتنر- د ودوروف منتجة مول واحد من الـ ATP من كل مول سكر وبذلك فهى تنتج نصف كمية المادة الخلوية التى تنتجها الخميرة من مول واحد من السكريات ، وذلك لأن الخميرة تحول الجلوكوز الى كحول خلال مسار ايمبدن ــ مايرهوف والذى ينتج ٢ مول ATP من كل مول جلوكوز.

وبذلك يمكن بوضوح رؤية أن كمية المادة الخلوية الناتجة عن مول واحد من الـ ATP تكاد تكون ثابتة وبالعكس من ذلك فان كمية المادة الخلوية الناتجة عن السكريات فى الكائنات المختلفة متغيرة على حسب مسار التمثيل الغذائى الذى تتبعه السكريات فى تلك الكائنات المختلفة.

نمو الخلايا ذات العمر الواحد : Synchronous growth

ان منحنى النمو الذى سبق الاشارة اليه يوضح نمو مجتمع من الخلايا ذات أعمار مختلفة وأحجام مختلفة ، ولا يمكن منه استقاء معلومات واضحة عن نمو الخلايا الفردية أما المعلومات عن الخلايا الفردية فى الـ فيمكن الحصول عليه من المزارع ذات العمر الموحد chronous cultures (خلايا كلها فى نفس المرحلة من دورة حياة الخلية) والقياسات المأخوذة من هذه المزارع تمثل القياسات المأخوذة عن خلايا فردية.

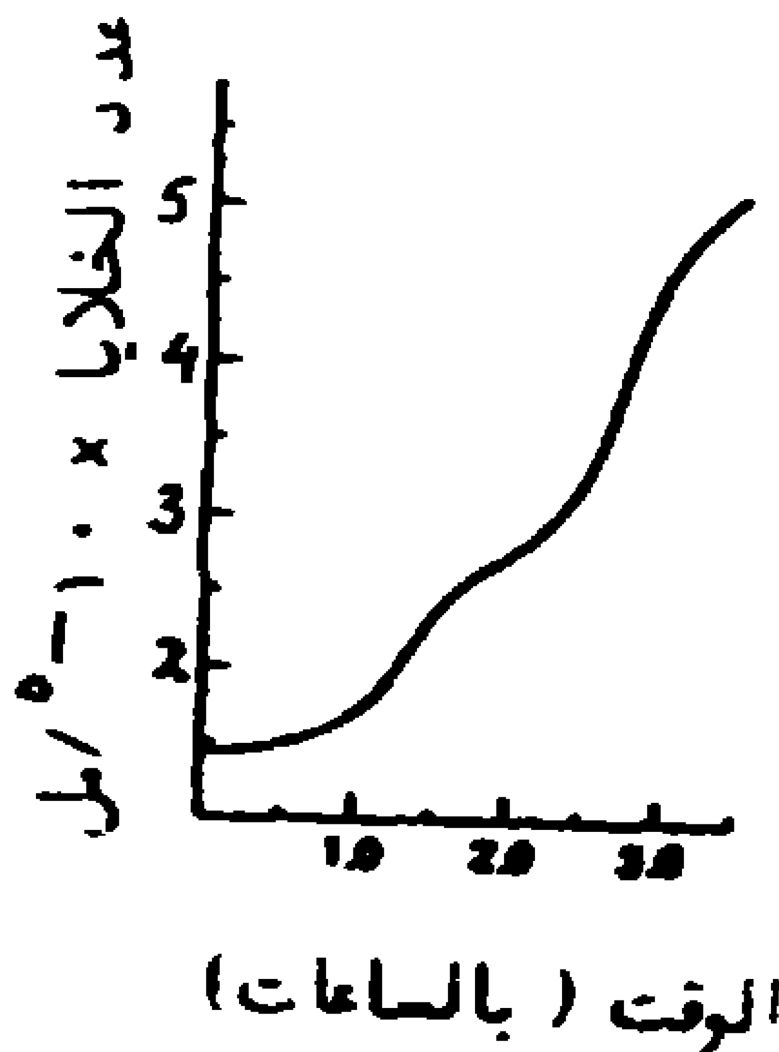
ومزارع البكتيريا ذات العمر الواحد يمكن الحصول عليها بعدد من طرق التقنية الحديثة فيمكن التأثير على الخلايا بمؤثرات بيئية مختلفة لجعلها تنقسم في نفس الوقت وعلى فترات . وفي بعض البكتيريا يمكن تحقيق ذلك بنقل المزارع على فترات متساوية الى درجات حرارة مرتفعة ومنخفضة أو بوضع خلايا بدأت لتوها مرحلة السكون في مستنبت جديد ـ كما يمكن الحصول على خلايا ذات عمر واحد بالفصل الطبيعي للخلايا التي تكونت لتوها بالانقسام عن الخلايا الأكبر عمرا عن طريق الترشيح او الطرد المركزي . والفصل الطبيعي أفضل كثيرا حيث تكون الخلايا في حالة فسيولوجية طبيعية دون مؤثرات خارجية .

والطريقة التي تختار بها هذه الخلايا تعرف باسم طريقة هيلمستتر ـ كامينجز (Helmstetter-cummings) وهي ترتكز على أن بعض البكتيريا تلتصق بشدة بأغشية نترات السليلوز Cellulose nitrate (ملليبور).

وتشمل الطريقة ترشيح مزرعة من البكتيريا ذات الأعمار المختلفة على غشاء ملليبور ثم يقلب الغشاء ويغسل بتيار خفيف من مستنبت صناعي لازالة الخلايا غير شديدة الالتصاق بالغشاء (شكل ١١ـ١٧) ويتبقى بعد ذلك الخلايا الملتصقة بالغشاء بشدة .



شكل ١١ـ١٧ : نمو الخلايا ذات العمر الواحد بطريقة هيلمستتر ـ كامينجز .



شكل ١١ـ١٨ : منحنى نمو الخلايا ذات العمر الواحد بطريقة هيلمستتر كامينجز حيث أخذت العينات الناتجة من غشاء الترشيح كل ثلاث دقائق وحضنت على ٣٠°م

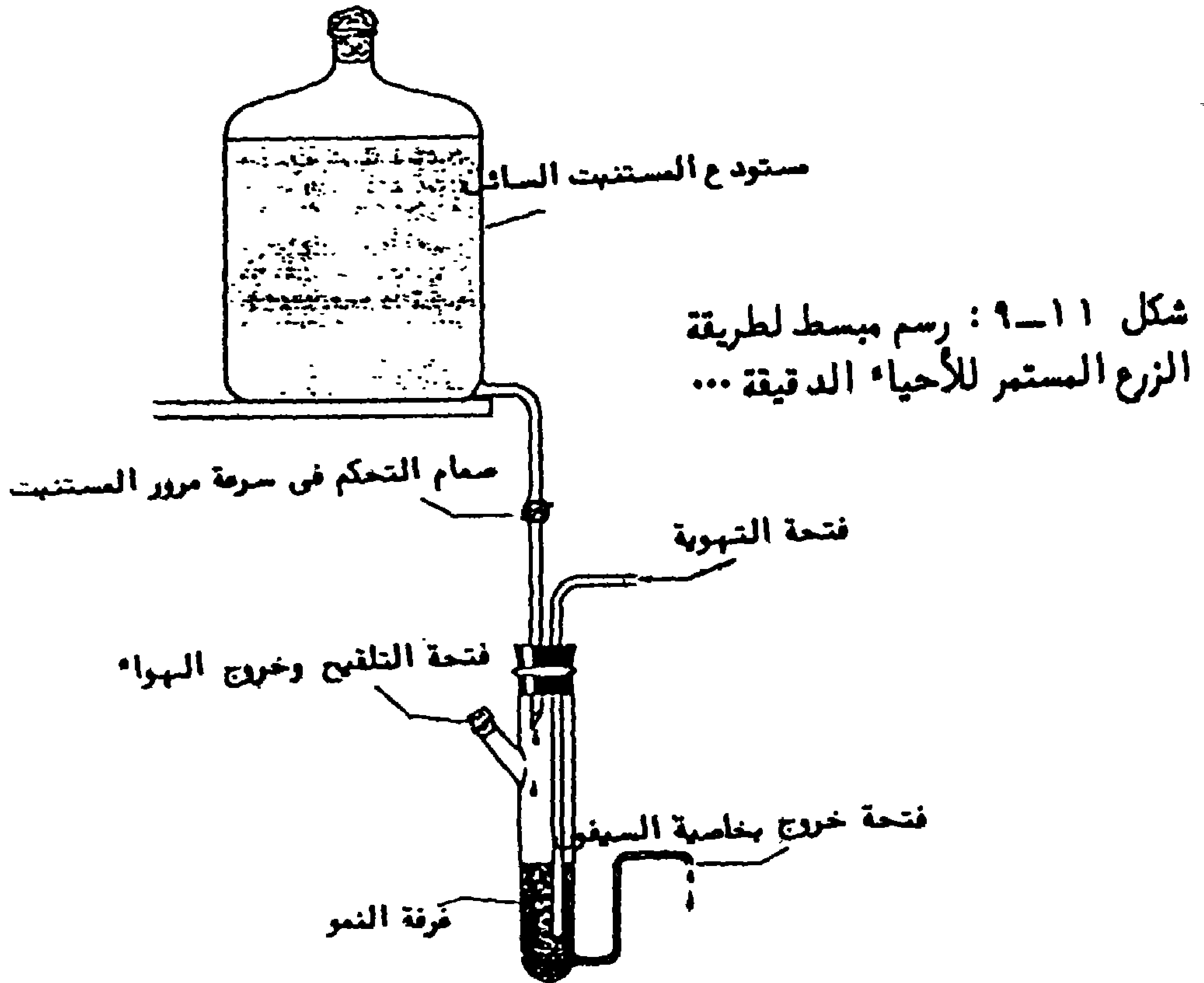
فاذا استمررنا في اضافة المستنبت المناعي فان الخلايا التي تترك هي فقط الخلايا التي تكونت بانقسام حديث · فاذا جمعت كميات السائل الراشح كل دقيقتين تكون الخلايا في هذا السائل كلها ذات أعمار متقاربة جدا ، واذا أجريت لها دراسة نمو كالسابقة فاننا نحصل على المنحنى الموضح في الشكل (١١ـ ١٨) والملاحظ أن الخلايا تفقد صفة وحدة الأعمار بسرعة نتيجة لأنها تنقسم في أوقات مختلفة منتجة مزرعة تحتوى على خلايا ذات أعمار مختلفة تسلك سلوكا مماثلا لما سبق ايضاحه في منحنى النمو (شكل ١١ـ١٨) ·

الزرع المستمر للأحياء الدقيقة :

Continuous culture of microorganisms

المزارع التي نوقشت حتى الآن هي من نوع مزارع الدفعات Batch cultures لا تتجدد فيها العناصر المغذية ، ولذلك فان النمو اللوغاريتمي فيها يستمر لعدة أجيال قليلة فقط ، ويمكن الاحتفاظ بمرحلة النمو اللوغاريتمي لفترات زمنية طويلة باستعمال نظام الزرع المستمر الكيموستات Chemostat ـ شكل (١١ـ١٩) · حيث تكون غرفة النمو متصلة بمستودع يحتوى على مستنبت معقم ·

بمجرد بدء النمو فان كميات صغيرة من المستنبت المعقم تنساب بمعدل ثابت من المستودع · ويظل حجم السائل في غرفة النمو ثابتا عن طريق السماح للزيادة من السائل (الناتجة عن الاضافة المستمرة من المستودع) بالانسياب خلال سيفون Siphon واذا دخل المستنبت الجديد بمعدل ثابت الى غرفة النمو فان كثافة البكتيريا في غرفة النمو تظل ثابتة بعد فترة ضبط في بداية تشغيل الكيموستات Chemostat · وبمعنى آخر فان البكتيريا تنمو بسرعة فقط تكفي لتعويض البكتيريا المفقودة خلال السيفون Siphon · واذا عدل معدل دخول المستنبت الجديد الى غرفة النمو فانه يلي ذلك فترة ضبط جديدة ويليها تغير معدل النمو ليتناسب مع المعدل الجديد لدخول المستنبت · ولذلك نجد أن الذي يحدد معدل النمو في الكيموستات هو معدل اضافة المستنبت الجديد



شكل ١١ـ٩ : رسم مبسط لطريقة الزرع المستمر للأحياء الدقيقة ...

وكذلك تركيز العامل المحدد للنمو • ويجب عند تشغيل الكيموستات ضبط معدل التغذية حيث أن زيادة اضافة المستنبت أكثر من اللازم أو قلته عن اللازم يؤدى الى غسيل المزرعة من غرفة النمو •

ويوجد نظام مماثل للزرع المستمر يسمى التربيدوستات Turbid-ostat يختلف عن الكيموستات اختلافا بسيطا • فالكيموستات ينساب فيه المستنبت الجديد من المستودع بمعدل معين للحصول على معدل نمو للمزرعة يتناسب مع معدل الانسياب المذكور • أما التربيدوستات فيشمل وسائل بصرية حساسة لقياس الامتصاص الضوئى Absorbancy فى غرفة النمو وهذه الوسائل متصلة كهربيا مع صمام مركب على المستودع • فعندما تصل درجة التعكير في غرفة النمو الى حد معين فان الصمام المركب على المستودع يفتح أوتوماتيكيا ليسمح بجزء جديد من المستنبت بالنزول فى

غرفة النمو فتخف درجة التعكير فيقفل الصمام مرة ثانية ، وفي هذه الحالة فان الامتصاص الضوئي هو الذي يتحكم في معدل انسياب السائل الجديد من المستودع، وهذا بدوره يتحكم في معدل النمو .

الفصل الثانى عشر

العوامل التى تؤثر على نمو ونشاط الكائنات الدقيقة وأهميتها

يتأثر نشاط ونمو الأحياء الدقيقة كثيرا بالظروف الطبيعية والكيميائية للبيئات التى يعيشون فيها . ومما لا شك فيه أن فهم التأثيرات البيئية المختلفة ستساعدنا على شرح توزيع الكائنات الدقيقة فى الطبيعة كما أنها تجعل من الممكن وصف الطرق اللازمة للتحكم فى نشاط الكائنات الدقيقة والتخلص من الأنواع غير المرغوبة منها . ولا تستجيب الأحياء الدقيقة للمؤثرات البيئية المختلفة بطريقة متماثلة ، بل على العكس من ذلك تماما فان بعض المؤثرات الضارة لبعض الأحياء الدقيقة قد تكون مفيدة لأحياء دقيقة أخرى . وعلى أى حال فان الأحياء الدقيقة تستطيع تحمل بعض الظروف غير المناسبة أثناء نموها ، لذلك لزم التنويه بين تأثير الظروف البيئية على نشاط وتكاثر الأحياء الدقيقة وبين تأثير الظروف البيئية على حياة تلك الأحياء .

أولاً درجة الحرارة Temperature

تعتبر درجة الحرارة أحد أهم العوامل التى تؤثر على نمو الأحياء الدقيقة وتكاثرها ، كما تستخدم المعاملات الحرارية المرتفعة لقتل الأحياء الدقيقة . فالحرارة يمكنها أن تؤثر على نمو ونشاط الأحياء الدقيقة فى أى من اتجاهين متضادين (ارتفاعا وانخفاضا) ويخضع تأثير درجة الحرارة على نمو الأحياء الدقيقة لمعادلة أرهينيوس Arrhenius التى توضح العلاقة بين سرعة أى تفاعل كيميائى ودرجة حرارة التفاعل :

$$لو_{١٠} \quad س = \frac{- \Delta ح}{٢٫٣٠٣ \; ر \quad ت} + ج$$

حيث تكون :ـ

س = سرعة التفاعل

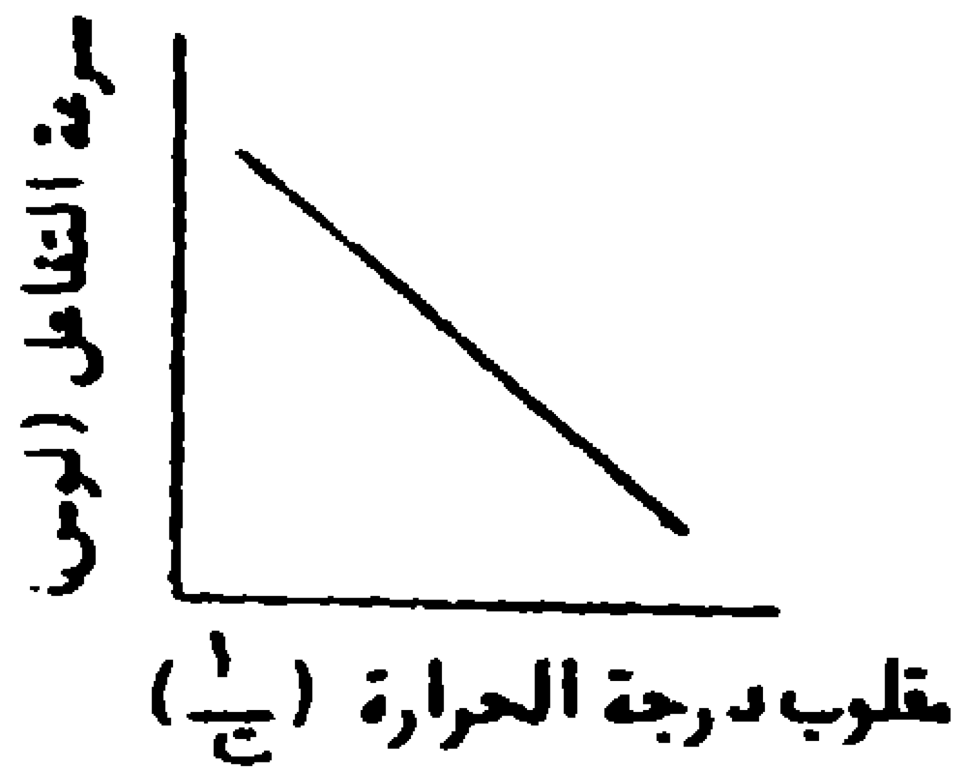
Δ ح = طاقة التنشيط للتفاعل

ر = ثابت الغازات

ت = درجة الحرارة بوحدات كلفن
جـ = ثابـــت.

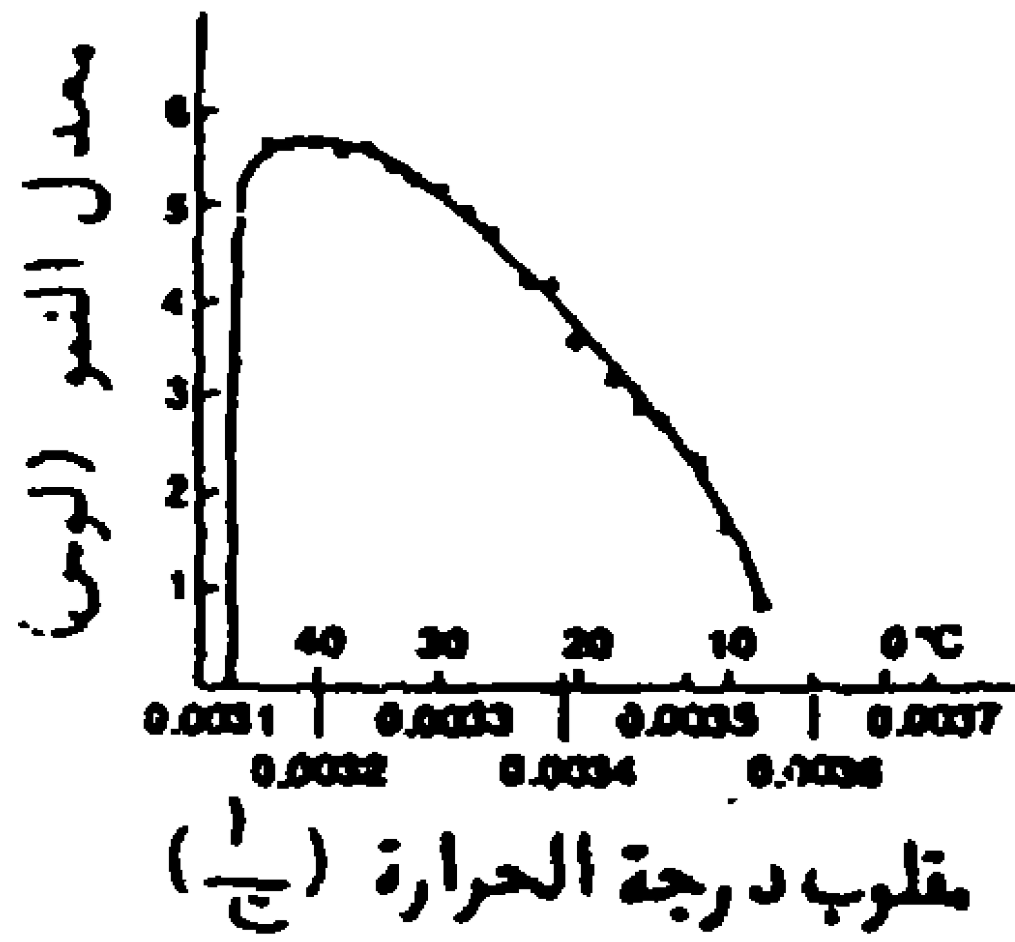
لذلك، فعند رسم العلاقة بين سرعة أى تفاعـــل كيميـائى (س) ومقلوب درجة الحرارة بوحدات كلفن فاننا نحصل على خط مستقيم (شكـل ١٢ــ١) ذو ميل سالب.

شكل ١٢ــ١ : العلاقة بين سرعة تفاعل كيميائى ومقلوب درجة الحرارة وفقا لمعادلة أرهينيوس.



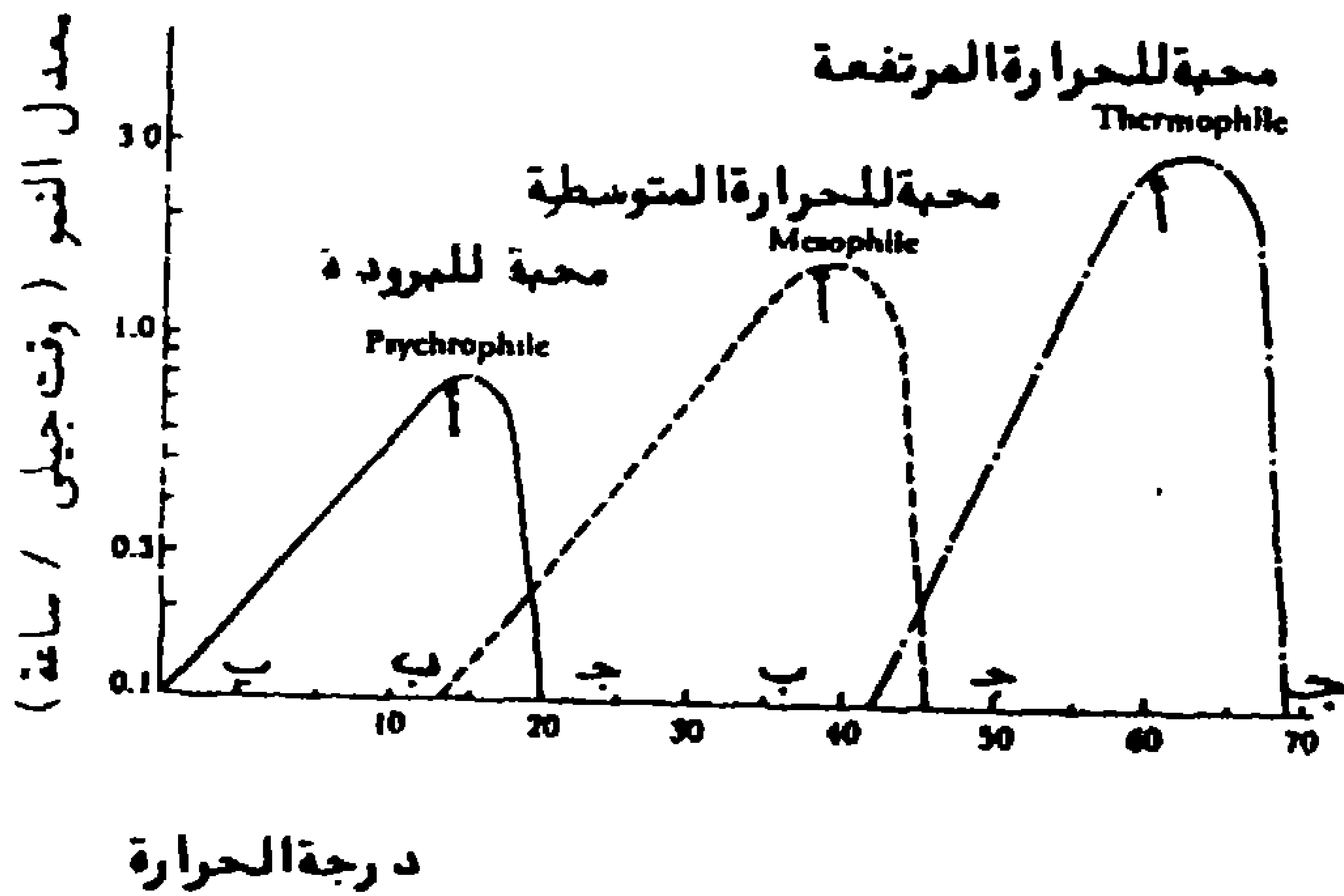
وعند رسم العلاقة بين سرعة نمو الأحياء الدقيقة (س) مع مقلـــوب درجة حرارة النمو بوحدات كلفن فاننا نحصل على خط مماثل على مـــدى معين من درجات حرارة النمو. حيث أن النمو يقل بسرعة عند كلا الطرفين (شكل ١٢ــ٢) الحد العلوى والحد السفلى لمدى درجات حرارة النمو. فالهبوط السريع لمعدل النمو عند درجة حرارة مرتفعة يرجع لعدم ثبـات البروتينات والأحماض النووية ... أما الهبوط السريع لسرعة النمو فى النهاية الأخرى من الخط (شكل ١٢ــ٣) فهى غير معروفة على وجه التأكيـد. فمن معادلة أرهينيوس فانه من المتوقع أن يقل معدل النمو كلما انخفضت درجة الحرارة حتى يتوقف عندما يتجمد وسط التفاعل، ولكن الملاحظ فـى الأحياء الدقيقة أن النمو يتوقف قبل درجة التجمد فى كثير من الحـــالات ومن الجائز أن تؤثر درجة الحرارة المنخفضة على الدور الهام الذى يلعبه الغشاء الخلوى فى نقل العناصر الغذائية الى داخل الخلية.

ولذلك فانه كلما زادت درجة الحرارة زاد معدل النمو حتى نهاية مدى معين من درجات الحرارة وهو المدى الذى تزيد فيه سرعة التفاعلات



شكل ١٢ـ٢ : العلاقة بين معدل النمو (لوس) ومقلوب درجـــــة الحرارة ١/ح لبكتيريا القولـــــون *E. coli*

الكيميائية والانزيمية فى الخلية دون اتلاف الأحماض النووية والبروتينات واذا زادت درجة الحرارة عن ذلك المدى بالدرجة التى تسمح باتلاف الأحماض النووية والبروتينات فان معدل النمو ينخفض بسرعة كبيرة فجأة (شكـــــل ١٢ـ٣) . ويمكن بناءاً على ذلك تحديد ثلاث درجات حرارة للنمـــــو خاصة لكل كائن حى كما يلى :



شكل ١٢ـ٣ : العلاقة بين درجة الحرارة ومعدل النمو للأحيـــــاء الدقيقة المحبة للبرودة Psychrophile والمحبة للحرارة المتوسطة Mesophiles والمحبة للحرارة المرتفعة Thermophile

أـ درجة الحرارة المثلى
ب ـ درجة الحرارة الدنيا
جـ ـ درجة الحرارة القصوى

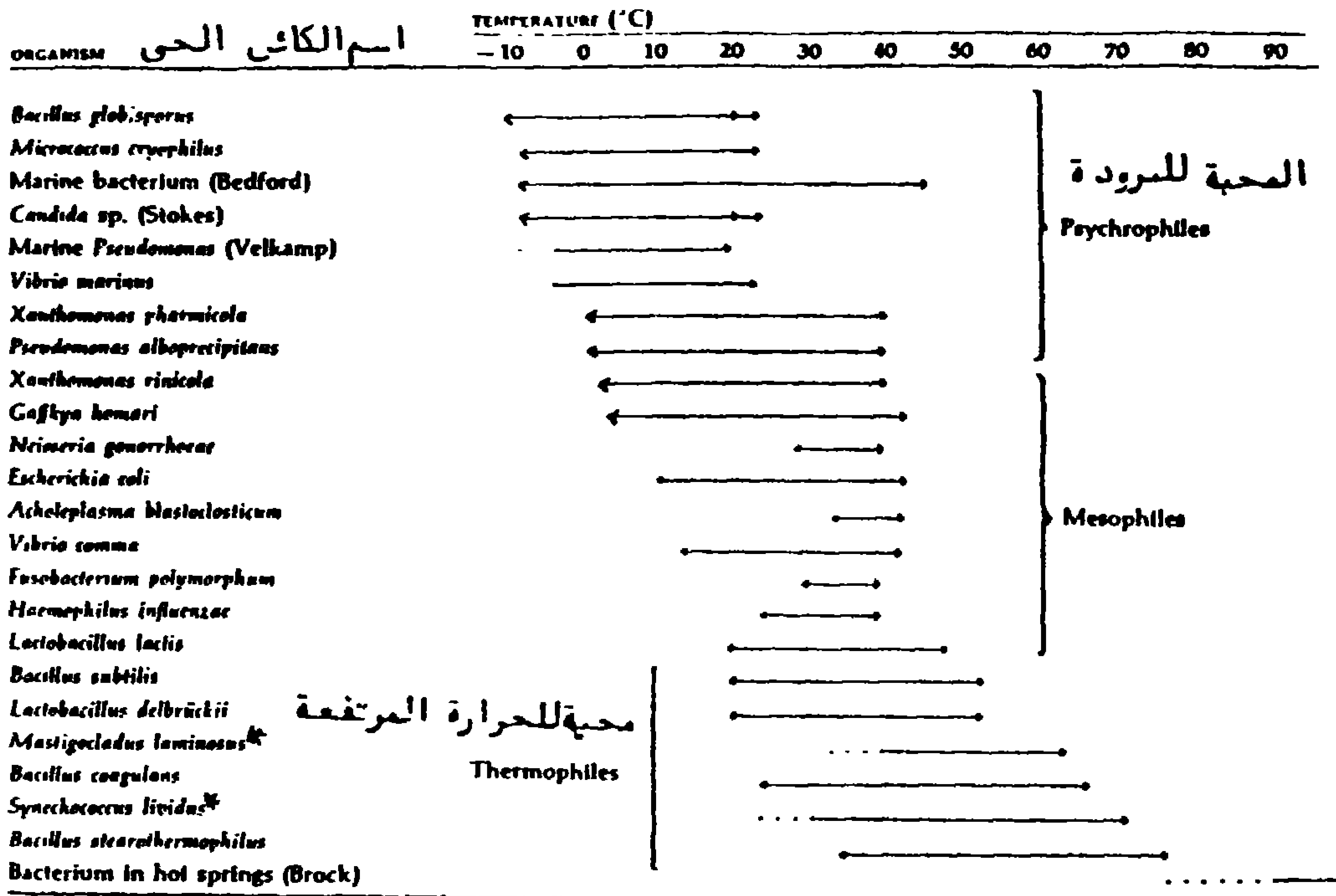
(١) درجة الحرارة الدنيا (الصغرى) للنمو Minimum temperature
وهى أقل درجة حرارة يحدث عنها نمو · بمعنى أنه اذا انخفضت درجة الحرارة عنها يتوقف النمو تماما · وقد يحدث خطأ فى تقديرها أحيانا فقد يعتقد الباحثون أن النمو قد توقف عند درجة حرارة معينة ، بينما يكون مستمرا ، ولكن الوقت الجيلى يكون طويلا · والسبب فى توقف النمو عند درجة حرارة أقل من درجة الحرارة الدنيا غير معروف·

(٢) درجة الحرارة المثلى للنمو Optimum temperature
وهى أفضل درجة حرارة للنمو أو درجة الحرارة التى ينمو عندها الكائن الحى بأعلى معدل للنمو·

(٣) درجة الحرارة القصوى (العظمى) للنمو Maximum temperature
وهى أعلى درجة حرارة يحدث عندها نمو ، وبمعنى آخر هى درجة الحرارة التى يتوقف النمو بعدها · والسبب فى عدم قدرة الأحياء الدقيقة على النمو عند درجات حرارة أعلى من درجة الحرارة القصوى للنمو هو التلف الذى يحدث فى البروتينات والأحماض النووية ، وتكون درجة الحرارة المثلى عادة أقرب لدرجة الحرارة العظمى للنمو عنها لدرجة الحرارة الدنيا (الصغرى) ·

وتعتبر درجات الحرارة السابقة الذكر خواص محددة هامة Cardinal temperature لكل نوع من أنواع الأحياء الدقيقة ولكنها ليست دائما ثابتة · اذ أنها قد تتغير بواسطة عوامل بيئية معينة ، كما تختلف درجات الحرارة الثلاث من ميكروب لآخر فبعض الأحياء الدقيقة لها درجات حرارة مثلى تتراوح بين ٥، ١٠°م بينما البعض الآخر له درجات حرارة مثلى تصل الى ٧٥°ـ ٨٠° · أما المدى الذى تنمو فيه الكائنات الدقيقة فهو أكبر من ذلك ، فبعض الكائنات تستطيع أن تنمو على درجات حرارة تحت درجة حرارة تجمد المياه تصل الى ـ ١٢°م بينما تستطيع بعض الكائنات الدقيقة النمو على درجة حرارة غليان الماء (١٠٠°م) ولكنه لا يوجد ميكروب واحد يستطيع النمو على هذا المدى الواسع من درجات الحرارة· ولكن المدى العادى لمعظم الأحياء الدقيقة يكون عادة بين ٣٠، ٤٠°م

جدول ١٢ ــ١ : مدى درجات حرارة النمو لبعض ذوات النواة البدائية



الخطوط المنتهية بسهم واحد توضح وجود درجة حرارة محددة عند نهاية هذا السهم.
الخطوط المنتهية بسهمين توضح درجة الحرارة القصوى بين هذين السهمين.
الأسهم الممتدة بخطوط متقطعة تبين عدم التوصل الى درجة الحرارة الصغرى للنمو. * عبارة عن بكتيريات خضراء مزرقة.

وان كانت بعض الأحياء الدقيقة لها مدى أقل أو أكثر من ذلك (جدول ١٢ ــ١) . ويمكن تقسيم الأحياء الدقيقة على حسب اتساع أو ضيق مدى درجات حرارة النمو الى :

١ ــ الأحياء الدقيقة ذات المدى الضيق من درجات حرارة النمو Stenothermal وهى عادة توجد فى الأماكن ذات درجات الحرارة الثابتة نوعا ما .

٢ ــ الأحياء الدقيقة ذات المدى الواسع من درجات حرارة النمو Eurythermal وهى عادة توجد فى الأماكن التى تتعرض لاختلافات

كبيرة فى درجات الحرارة · وكلا النوعين من الأحياء الدقيقة لهما درجات حرارة دنيا ومثلى وعظمى للنمو·

وبالرغم من استمرارية مدى درجات الحرارة بين الأحياء الدقيقة المختلفة وتداخل المدى بين الأنواع المختلفة ، الا أنه يمكن تقسيم الأحياء الدقيقة بصفة عامة الى :

١ـ الأحياء الدقيقةالمحبة لدرجات الحرارة المرتفعةThermophiles وهى الأحياء الدقيقة التى تنمو على درجات حرارة مرتفعة (أعلى من ٥٠°م) ·

٢ـ الأحياء الدقيقة المحبة للحرارة المتوسطة Mesophiles وهى الأحياء الدقيقة المحبة للحرارة المتوسطة (من ٢٠ الى ٤٥°م) ·

٣ـ الأحياء الدقيقة المحبة (للبرودة) لدرجات الحرارة المنخفضةCryophilic or Psychrophilic وهى الأحياء الدقيقة التى لها درجة حرارة مثلى للنمو مساوية ١٥°م أو على أن تكون درجة الحرارة الدنيا (الصغري) لنموها تساوي صفر°م أو أقل ويجدر الاشارة الى أن بعض المراجع تعرف هذه المجموعة على أنها تلك الأحياء التى تستطيع النمو على درجة صفر°م وليس هذا دقيقا بالطبع·

وهذه الأحياء صعبة الدراسة فى المعمل عادة ، اذ أنها كثيرا ما تموت لو ارتفعت درجة الحرارة قليلا فيجب الحذر الدائم والاحتفاظ بها فى غرف مبردة طول الوقت· كما يجب تبريد المعدات والمستنبتات قبل الاستعمال · لذلك فهذه الأحياء لم تدرس دراسة كاملة بعد ·ولكن توجد دراسات كافية تدل على ان هذه الأحياء موجودة ومنها بعض البكتيريا والطحالب والفطريات، وأكثر هذه الأحياء دراسة هو الطحالب بنية أو دياتومية ذات نواه حقيقية تنمو فى طبقة الجليد وتحت السطح بكميات كبيرة فى المناطق القطبية ، ومن أمثلتها الطحلب المسمى Fragill-aria sublinearis ومن أكثر الطحالب تلونيا للجليد (باللون الأحمر)

هو الطحلب Chlamydomonas nivalis كما أن الفطر Typhula – وهو يصيب الحشائش وقمح الشتاء فى المناطق الباردة – من الأحياء الدقيقة المحبة للبرودة الاجبارية .

٤_ الأحياء الدقيقة التى تتحمل (البرودة) درجات الحرارة المنخفضة Psychrotroph وهى الأحياء الدقيقة التى تستطيع النمو على صفر°م ولكن درجة الحرارة المثلى لنموها أكثر من ٢٠°م كأن تكون ٢٥°م أو ٣٠°م أو أكثر . وأحيانا يطلق على هذه الأحياء الدقيقة اصطلاح " المحبة للبرودة " الاختيارية Facultative Psychrophiles ومثل هذه الكائنات تنتشر بكثرة فى البيئات الطبيعية التى تتعرض لمدى كبير من درجات الحرارة كاللحوم واللبن ومنتجاته والخضروات والفاكهة وغيرها من المواد ، وينتج عن ذلك تدهورصفات مثل تلك المواد ، وكلما ارتفعت درجة حرارة التخزين لهذه الأغذية كلما زادت سرعة تلف هذه الأغذية نظرا لأن الأحياء الدقيقة التى تسبب تلفها تنمو أفضل على درجات الحرارة المرتفعة ولكنها تتحمل البرودة . وكلما انخفضت درجة حرارة التخزين كلما طالت مدة الحفظ بدون حدوث التلف. ولحسن الحظ أن – الأحياء الدقيقة التى تسبب تلف الأغذية المبردة هى من نوع الأحياء الدقيقة التى تتحمل البرودة Psychrotroph الشائعة فى أماكن المدنية البشرية وليست من نوع الأحياء الدقيقة المحبة للبرودة الاجبارية Psychophilic الغير شائعة فى أماكن انتشار المدنية البشرية . فالأحياء الدقيقة المحبة للبرودة الاجبارية ربما تنمو أسرع فى الأغذية المبردة ، وقد تصبح السيطرة على هذه الأحياء الدقيقة فى الأغذية بالتبريد – دون التجميد – أكثر صعوبة .

أما الأحياء المحبة للحرارة المتوسطة Mesophiles فهى توجد فى الحيوانات ذات الدم الحار وفى التربة والمياه والعذبه والمالحة وواسعة الانتشار فى الطبيعة على عكس الأحياء المحبة للحرارة المرتفعة Thermophiles .

وفيما يلى نعرض أهم البيئات الطبيعية الباردة والساخنة .

البيئات الطبيعية الباردة : Cold environments

ان أغلب أجزاء العالم ذات درجة حرارة منخفضة نسبيا ٠ فالمحيطات التي تكون أكثر من نصف سطح الكرة الأرضية تكون درجة حرارتها في المتوسط حوالى ٥ْم وتكون درجة الحرارة في أعماق المحيطات عادة بين ١ـ٢ْم ٠ كما أن مساحات كبيرة من الأرض في كلا القطبين الشمالي والجنوبي تكون متجمدة معظم العام فيما عدا أسابيع قليلة في الصيف٠ وهذه المناطق تشجع وجود الأحياء الدقيقة المحبة للبرودة الاجبارية وهي من الأحياء الدقيقة ذات المدى الضيق من درجات حرارة النمو Stenothermal .

وهذه البيئات الطبيعية الباردة نادرا ما تكون معقمة ، وغالبا ما يوجد بها أحياء دقيقة حية ، بل ونامية أيضا طالما وجدت أوساط غير متجمدة ٠ والمعروف أن معظم المواد المتجمدة يوجد بها جيوب صغيرة تحتوى على سوائل غير متجمدة وخاصة في وجود مواد صلبة ذائبة ٠ ومثل هذه الجيوب تنمو فيها الأحياء الدقيقة حتى على درجات حرارة أقل من الصفر المئوى ، ومن المهم التمييز بين البيئات الطبيعية الباردة على مدار العام مثل أعماق المحيطات والقطبين وقمم الجبال الشاهقة ، وبين البيئات الطبيعية التي تكون باردة في الشتاء فقط مثل تلك التي توجد في القارات الخمس حيث ترتفع الحرارة في الصيف الى ٣٠ْم أو أكثر وتنخفض في الشتاء الى صفر أو أقل في كثير من المناطق ، ومثل تلك المناطق لا تشجع نمو الأحياء الدقيقة المحبة للبرودة الاجبارية Psychro- philes Cryphiles ولكنها تشجع نمو الأحياء الدقيقة المحبة للبرودة الاختيارية Facultative Psychrophile or Psychotroph ومعظمها من الأحياء الدقيقة ذات المدى الواسع من درجات حرارة النمو Eurythermal ومثل هذه الأحياء الدقيقة المحبة للبرودة الاختيارية هي التي تسبب فساد الأغذية المختلفة التي تحفظ بالتبريد في الثلاجات كما سبق أن أشرنا ٠

ورغم أن تجميد Freezing الأغذية يقلل كثيرا من حدوث التلف بالأحياء الدقيقة التى تتحمل البرودة (المحبة للبرودة الاختيارية) الا أن بعض الأحياء الدقيقة تستطيع النمو فى البيئات السائلة على درجات حرارة أقل من الصفر المئوى ·

لذلك فان الأغذية المجمدة تجميدا خفيفا والتى عادة ما تحتوى على جيوب سائلة تكون عرضة للتلف اذا ما خزنت لفترات زمنية طويلة ·أما الأغذية التى تجمد تجميدا عميقا Deep freezing فتقل فيها الجيوب السائلة الى حد كبير ، ويكاد معدل نشاط الأحياء الدقيقة يتوقف تماما ليس فقط بسبب قلة الجيوب السائلة ولكن أيضا بسبب انخفاض درجة الحرارة ·

التأثير الحافظ للتجميد

ان التجميد لا يمكن استخدامه كوسيلة للتعقيم ، ولكن كثيرا ما يلاحظ انخفاض أعداد الأحياء الدقيقة فى الأغذية أثناء التجميد وخلال فترات التخزين المجمد الطويلة ، وخاصة فى التجميد البطىء Slow freezing أو عند تذبذب درجات الحرارة أثناء التخزين المجمد تذبذبا كبيرا ·

وقد أدت الأبحاث العديدة التى أجريت لدراسة تأثير التجميد على الخلايا الحية الى فهم الأحداث الجزئية التى تتم أثناء التجميد · فعندما تتعرض الخلايا الحية لدرجات حرارة التجميد فان السيتوبلازم يتجمد بنفس سرعة الوسط المحيط ، ولكن محتويات الخلية تتجمد بسرعة تعتمد على سرعة التجميد ومدى سرعة نفاذ أسطحها الخارجية للماء · فكلما كانت درجة الحرارة منخفضة كلما كان التجميد سريعا ·وينتج عن ذلك تجمد قطيرات الماء الصغيرة الحجم لتكون بللورات ثلجية صغيرة فى وقت متقارب ، وبذلك لا تنمو البللورات فى الحجم وتبقى ثابتة ، وعند الصهر السريع لمثل هذه الخلايا فان معظمها يستعيد نشاطها الخلوى ·

أما فى حالة التجميد على درجات حرارة مرتفعة نسبيا كما فى حالة التجميد البطىء فان الوسط المحيط يتجمد أولا ويصبح تركيز المواد

الذائبة فى خارج الخلايا مرتفعا مسببا انتقال الماء الخلوى الى خـــارج الخلية الى أن يحدث اتزان بين الضغط الأسموزى خارج وداخل الخلايا. وقد يؤدى ذلك الى تجفيف جزئى للخلايا ، وتعتبر بعض الخلايـــا حساسة لمثل هذا النوع من التجفيف . وباستمرار انخفاض حرارة مكونـات الخلايا أثناء التجميد البطىء تتكون بللورات صغيرة تنمو فى الحجـــم . ويؤدى نمو البللورات فى التجميد البطىء الى تلف ميكانيكى لبعض مكونات الخلايا وخاصة الغشاء الخلوى والأنظمة الغشائية الأخرى فى الخليـــة ، وربما للجزئيات الحيوية الكبيرة كما أن الجدر الخلوية (فى الخلايـا ذات الجدر الخلوية) تكون عرضة للتكسر نتيجة لنمو البللورات الثلجية أيضـــا ، ويحدث هذا العيب الأخير فى الأنسجة النباتية عند تجميدها تجميدا بطيئا بكثرة مسببا فقد الأنسجة النباتية لقوامها المميز وفقد العصيـــر الخلوى بكثرة عند الانصهار . لذلك فان التجميد البطىء أكثر فعاليـــة فى قتل الأحياء الدقيقة عن التجميد السريع ، وذلك نتيجة لنمو البللـورات الثلجية فى التجميد البطىء وهو العيب الذى لا يحدث فى التجميـــد السريع ... الا أن البللورات الثلجية الصغيرة جدا التى تتكون فى التجميد السريع قد تتعرض للنمو اذا كان التخزين المجمد يتم فى مدى كبير مـــن درجات الحرارة . فاذا كان منظم درجة الحرارة Thermostate فـــى غرف التجميد من النوع الردىء بحيث يسمح بمدى كبير من درجات الحرارة لفصل وايصال دورة التبريد . فعندما ترتفع درجة حرارة التخزين المجمـد أثناء انفصال دورة التبريد ينصهر جزء من البللورات الثلجية ، وعنـــد اتصال دورة التبريد ثانية تبدأ هذه الكميات السائلة الصغيرة فى التجميد على أسطح البللورات الموجودة مسببة نموها مما قد ينتج عنه عيوب نمـــو البللورات الثلجية . لذلك فانه يلاحظ انخفاض أعداد الكائنات الدقيقـة أثناء التخزين المجمد الطويل المدى .

استخدام التجميد لحفظ المزارع الميكروبية

ان التجميد يؤدى الى قتل نسبة من الخلايا خاصة اذا لم تراعـى ظروف التجميد السريع و المحافظة على المزارع المجمدة فى مدى صغيـــ

من تذبذب درجات الحرارة صعودا وهبوطا نتيجة استعمال أجهـــــزة تنظيم درجات الحرارة الجيدة ٠

فوق ذلك فانه كثيرا ما تضاف مواد مبللة Water-miscible مثل الجليسرول والداى ميثيل سلفو أكسيد Dimethyl sulfoxide بتركيـز يصل الى نصف مولركوسط لتعليق الأحياء الدقيقة ٠ وهذه المواد تتخلـل الخلايا وتقلل من التأثير التجفيفى للتجميد ٠ كما تضاف مواد ذات وزن جزيء كبير مثل البيومين السيرم Serum albumin والدكستريــــــن والبوليفينايل بيروليدون Polyvinylpyrrolidone بتركيز يصل الـــى 10^{-5} الى 10^{-3} مولر ٠ وهذه المواد لا تدخل الى داخل الخلايـا ، وربما يرجع فعلها الحافظ الى الارتباط بسطح الخلية مسببا حماية غشـاء الخلية من التلف التجميدى ٠

والأهمية العملية لذلك تنحصر فى امكانية حفظ الخلايا الحساسـة للتجميد باستخدام سائل التعليق المناسب٠

البيئات الطبيعية ذات درجات الحرارة المرتفعة :

سبق أن ذكرنا أن الأحياء الدقيقة التى تنمو على درجات حـرارة أعلى من ٥٠°م تسمى " محبة للحرارة Thermophiles " ومثل تلـك الدرجة من الحرارة توجد فى الطبيعة فى أماكن محدودة ٠ فسطح التربـة المعرض لضوء الشمس القوى فى منتصف النهار فى الصيف تسخن عادة لفـوق الخمسين درجة مئوية ، وقد تصل درجة حرارة أنواع التربة القاتمة الـى ٧٠°م أو أكثر ٠ وذلك رغم أن درجة الحرارة على بعد عدة بوصات تحـت السطح تكون أقل كثيرا من ذلك٠ كما أن أكوام الدبال والسيلاج قـد تصل درجة الحرارة فى داخلها من ٦٠ الى ٦٥°م ، وينابيع المـاء الساخن والتى قد تصل الى درجة الغليان ، ومصادر البخـــار الطبيعية Fumarols or steam vents ولكن أعلى درجات حـرارة معروفة فى الطبيعة هى درجات حرارة فوهات البراكين الثائرة وقد تصـل درجة حرارة الصخور Molten lava المتدفقة من البراكين الى أكثـر من ١٠٠٠°م ٠ ولم يثبت حتى الآن وجود أى نوع من صور الحياة فى مثـل هذه الصخور المنصهرة ٠

أما ينابيع الماء الساخن Hot springs فهى موجودة فى أماكن متعددة حول العالم وثبت وجود صور من الحياة الميكروبية بها • وتتركز معظم الينابيع الساخنة فى غرب الولايات المتحدة الأمريكية ونيوزيلندا وايسلندا واليابان ومنطقة حوض البحر المتوسط وأندونيسيا وأمريكا الوسطى • وأكبر تجمع للينابيع الساخنة فى العالم يوجد فى منتزه الحجر الأصفر القومى Yellowstone National Park فى ولاية وايومنج Wyoming الأمريكية، ودرجة حرارة عدد من هذه الينابيع تختلف من وقت لآخر ولكن بعض الينابيع لها درجة حرارة ثابتة على مدار السنين• وتصل درجة حرارة عدد من هذه الينابيع الى الغليان• وتبرد المياه تدريجيا على طول مجرى الماء المنساب من الينبوع الساخن• وينتج عن ذلك تدرج فى درجة حرارة المياه من المصدر الى أبعاد مختلفة منه• وينمو على طول مجرى مياه مثل تلك الينابيع أنواع معينة من الأحياء الدقيقة المحبة للحرارة Thermophiles كل فى المدى المناسب لنموه من درجات الحرارة • ومن دراسة أنواع الأحياء الدقيقة التى تنمو فى المجالات المختلفة من درجات الحرارة (جدول ١٢ــ٢) يمكن ببساطة استخلاص ما يلى :

جدول ١٢ــ٢ : درجة الحرارة القصوى التقريبية للنمو للأحياء الدقيقة المختلفة
Brock 1967. Science 158: 1012

الأحيــــــــاء الدقيقـــــــة	درجة الحرارة القصوى للنمو التقريبيـــــة بالدرجـــة المئويـــة
البروتوزوا	٤٥ - ٥٠
الطحالب ذات النواه الحقيقيـــة	٥٦
الفطريـــات	٦٠
البكتيريا الممثلة للضوء (بما فى ذلك البكتيريا الخضراء المزرقة)	٧٠ - ٧٣
البكتيريا	٩٩

(١) ان الأحياء الدقيقة ذات النواه البدائية ـ بصفة عامة ـ تستطيع النمو على درجات حرارة أعلى من تلك التى تنمو عليها الأحياء الدقيقة ذات النواة الحقيقية•

(٢) ان الأحياء الدقيقة غير الممثلة للضوء - بصفة عامة - تستطيع النمو على درجات حرارة أعلى من تلك التى تنمو عليها الأحياء الدقيقة الممثلة للضوء ٠

(٣) ان الأحياء الدقيقة ذات التركيب الأبسط تركيبا تستطيع النمو على درجات حرارة أعلى من الأحياء الدقيقة الأعقد تركيبا ٠

ولا يعنى ذلك أن جميع الأحياء الدقيقة التابعة لأى مجموعة من المجموعات السابقة تنمو على درجات الحرارة الأعلى أو الأقل ، فما هذه القواعد الا استخلاصات عامة ٠

ولقد سبق أن ذكرنا أن الأحياء الدقيقة المحبة للحرارة المرتفعة هى تلك الأحياء التى تنمو على درجة حرارة أعلى من ٥٠°م ٠ وفى الحقيقة ما هذا الا تعميم آخر ليسهل على الطالب استيعاب الموضوع ٠ ولكن عادة ما يطلق لفظ " محبة للحرارة " على أحياء دقيقة تنمو على درجات حرارة أقل أو أكثر من ذلك ، فمثلا تعتبر الطحالب الخضراء التى تستطيع النمو على ٣٥°م كائنات حية دقيقة محبة للحرارة ٠ وكذلك الحال بالنسبة للبروتوزوا التى تنمو فوق ٤٠°م (عادة بين ٤٠ - ٦٠°م) ... والفطريات والبكتيريا التى تنمو فوق ٥٥°م والسيانو بكتيريا التى تنمو فوق ٥٠°م (كما جاء فى التعريف العام) ٠

والبكتيريا بصفة خاصة تستطيع النمو فى مجال كبير من درجات الحرارة يتراوح من تحت نقطة تجمد الماء الى درجة غليانه ٠ ولا يوجد نوع واحد من البكتيريا يمكنه النمو فى هذا المجال كله ، ولكن عددا كبيرا من البكتيريا له مجال من درجات حرارة النمو يمتد الى حوالى ٣٠-٤٠°م وحتى البكتيريا المحبة للحرارة لها مجالات مختلفة من درجات حرارة النمو ، فبعضها له درجة حرارة مثلى للنمو ٥٥°م وبعضها ٧٠°م وأكثر من ذلك أيضا (٨٠°م) ففى ينابيع المياه الساخنة لدرجة الغليان يمكن دراسة البكتيريا التى تنمو على درجة الغليان بغمر شرائح مجهر Microscope slide فى الماء الذى يغلى لعدة أيام ثم فحصها تحت المجهر ، فيلاحظ تكون مستعمرات مجهرية على سطح الشريحة ٠

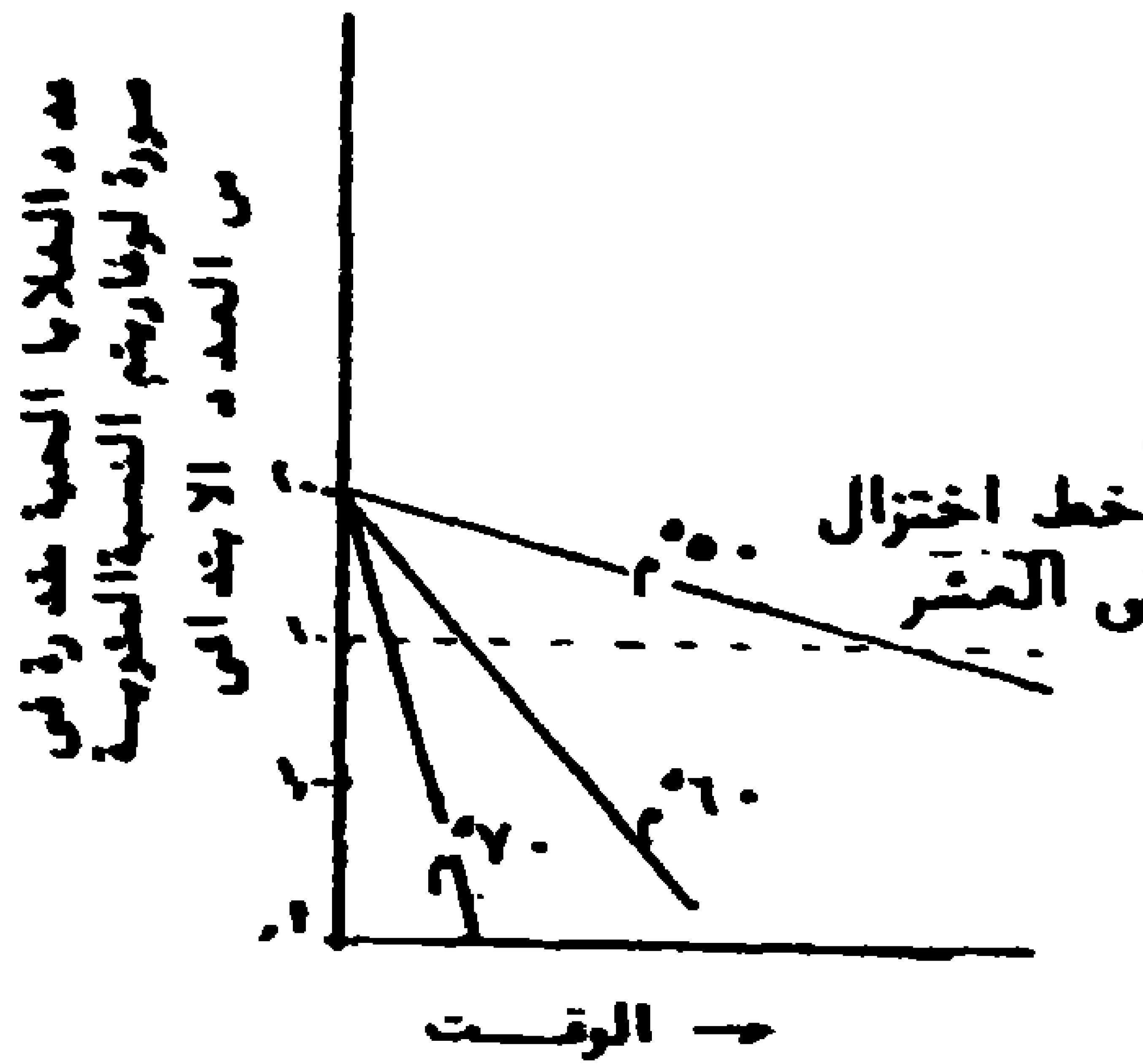
ومن المدهش حقا أن البكتيريا التى تنمو فى الينابيع الحارة تنمو بمعدلات نمو سريعة رغم ارتفاع درجة الحرارة (الوقت الجيلى من ٢ - ٧ ساعات) . ومعظم البكتيريا التى تنمو بين ٥٥، ٧٥°م تتبع أجناس مختلفة مثل Bacillus, Clostridium, Thermoactinomyces, Methanobacterium

أما البكتيريا التى تنمو فوق ٧٥°م فان القليل منها قد تم زرعه فى المختبرات ومنها أجناس Thermus و Sulfolobus وتوجد أنواع عديدة أخرى ولكنها لم تدرس.

وتوجد البكتيريا المحبة للحرارة فى بعض الأماكن التى صنعها الانسان مثل سخانات المياه المنزلية أو الصناعية . ولا يعرف كيف تنتقل هذه الأحياء الى السخانات الا أنه فيما يبدو أنها تنتقل خلال الهواء أو خلال أنظمة توزيع المياه . كما أنه من غير المعروف كيفية معيشة هذه الأحياء الدقيقة على هذه الدرجات العالية . ولكن المحتمل أن أنزيماتها ونظمها كلها مقاومة للحرارة العالية ، كما أنها أغشيتها الخلوية تكون مكونة أساسا من أحماض دهنية مشبعة وهى تكون روابط غير محبة للماء أكثر ثباتا على درجات حرارة مرتفعة بعكس البكتيريا المحبة للبرودة الاجبارية والتى تتكون الأغشية فيها من أحماض دهنية غير مشبعة وهى أكثر ثباتا على درجات الحرارة المنخفضة .

قتل الأحياء الدقيقة بواسطة الحرارة :

سبق الاشارة الى أن ارتفاع درجة الحرارة عن درجة الحرارة المثلى للنمو يقلل معدل النمو حتى تصل الى درجة الحرارة القصوى للنمو وهى أعلى درجة حرارة يحدث عندها نمو ، واذا ارتفعت درجة الحرارة بعد ذلك يتوقف النمو ثم يبدأ التأثير القاتل للحرارة على الأحياء الدقيقة. وكلما ارتفعت درجة الحرارة كلما كان التأثير القاتل أشد. ويوضح الشكل (١٢-٤) تأثير درجات الحرارة المختلفة ٥٠، ٦٠، ٧٠°م فى قتل نوع من الأحياء الدقيقة المحبة للحرارة المتوسطة Mesophilic . وقد ثبت أن تأثير الحرارة فى القتل ذو طبيعة لوغاريتمية ، بمعنى أن تعريض أى

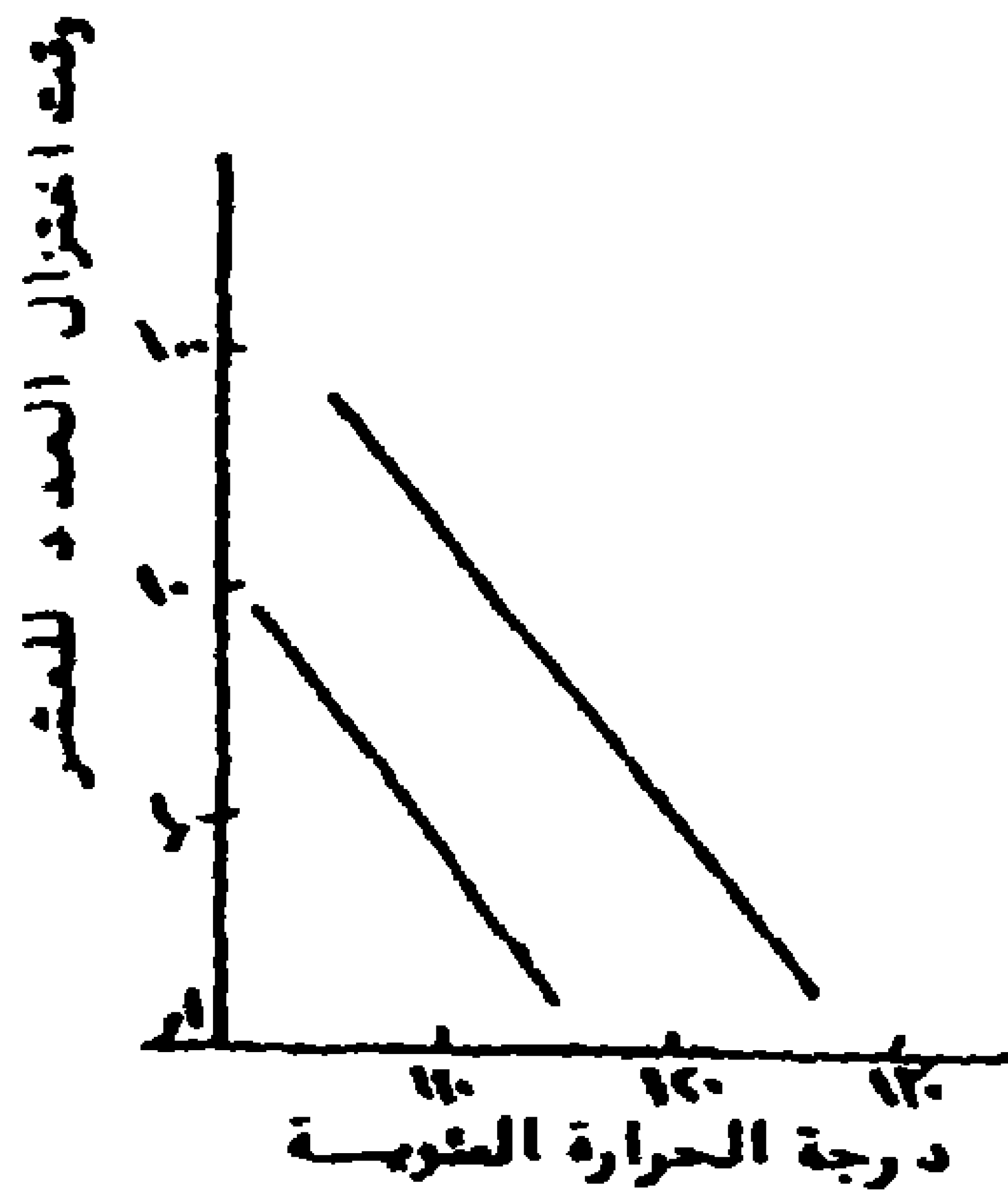


شكل ١٢ـ٤ : تأثير درجة الحرارة على حيوية البكتيريا المحبة للحرارة المتوسطة

عدد من الأحياء الدقيقة لدرجة حرارة مرتفعة يؤدى الى نقص هذا العدد بطريقة لوغاريتمية بمرور الوقت. ويزداد معدل هذا النقص كلما ارتفعت درجة الحرارة. لذلك فعند رسم العلاقة بين لوغاريتم عدد الأحياء الدقيقة المتبقية بعد أوقات مختلفة عند درجة حرارة معينة ، فأننا نحصل على خط مستقيم ، والوقت الذى يؤدى الى قتل ٩٠٪ (أى الوقت الذى يؤدى الى خفض العدد الابتدائى الى ١٠٪ منه) من عدد كائن حى معين عند درجة حرارة معينة يسمى " وقت اختزال العدد الى العشر " Decimal reduction time ويرمز له بالرمز (D) "وقت اختزال العدد الى العشر " ثابت لأى كائن حى دقيق وحيد الخلية ولا يعتمد على العدد الابتدائى للأحياء الدقيقة فى بداية التجربة ، فسواء كان العدد الابتدائى ١٠ مليون خلية أو ١٠٠ خلية فقط فان مرور " وقت اختزال العدد الى العشر " على درجة حرارة معينة يؤدى الى خفض العدد فى الحالتين الى ١٠٪ من العدد الابتدائى . ففى الحالة الأولى يؤدى مرور وقت اختزال العدد الى العشر الى قتل ٩ مليون خلية ، ويتبقى مليون خلية ، بينما فى الحالة الثانية ينتج عن هذه المعاملة قتل ٩٠ خلية فقط ويتبقى ١٠ خلايا ، ويعنى ذلك أن التأثير القاتل للحرارة ليس تراكميا ، كما هو الحال فى الأحياء متعددة الخلايا حيث يكون التأثير القاتل للحرارة تراكميا .

كما ثبت أيضا أن " وقت اختزال العدد للعشر " D للكائن حى وحيدة الخلية ينقص بارتفاع درجة الحرارة وهذا مهم فى عمليات تعقيم

الأغذية . فالعلاقة بين درجة الحرارة المستخدمة فى التعقيم وقيمة D علاقة لوغاريتمية . وبمعنى آخر فانه عند رسم العلاقة بين لو D (Log D) ودرجة الحرارة فاننا نحصل على خط مستقيم (شكل ١٢ـ٥) ويمثل ميل الخط المتحصل عليه مدى حساسية الميكروب تحت الدراسة للحرارة تحت ظروف التجربة . ويمكن استخدام المنحنى لحساب الوقت اللازم للمعاملة الحرارية للأغذية المراد تعليبها فى صناعة تعليب الأغذية .



شكل ١٢ـ٥ : العلاقة بين درجة الحرارة ومعدل القتل معبرا عنها بوقت اختزال العدد للعشر لنوعين من الأحياء الدقيقة .

تختلف الجراثيم الداخلية للبكتيريا فى مقاومتها للحرارة عن الخلايا الخضرية فتقاوم بعض الجراثيم درجة حرارة ١٢١°م لمدة ٤ الى ٥ دقائق ، بينما لا تقاوم جراثيم بعض الأنواع الأخرى للبكتيريا أكثر من ١ر٠ الى ٢ر٠ دقيقة . أما معظم الخلايا الخضرية فهى تقتل على درجة ٦٥°م لمدة ١ر الى ٥ر دقيقة .

ونظرا لأن تقدير قيمة D بدقة لأى ميكروب يستلزم بعض المجهود ، فقد ابتكرت طريقة أسهل لمعرفة مدى حساسية ميكروب معين للحرارة ، وذلك بتقدير الوقت اللازم لقتل جميع خلايا هذا الميكروب عند درجة حرارة معينة ، وسميت هذه الخاصية باسم وقت القتل الحرارى Thermal Death Time وهو عبارة عن الوقت اللازم لقتل جميع الخلايا فى معلق لميكروب ما عند درجة حرارة معينة . ويمكن تقدير هذا الأخير بسهولة بتسخين عينات من معلق ميكروب ما على نفس درجة الحرارة لفترات زمنية مختلفة ثم خلط هذه العينات بعد ذلك بوسط غذائى مناسب والتحضين

على درجة الحرارة المناسبة . فالمعاملة التى ماتت فيها جميع الخلايا لا يظهر بها أى نمو . ونظرا لأن وقت القتل الحرارى يعتمد على كثافة المعلق المستخدم فى التجربة فانه من الضرورى توحيد العدد المستخدم فى قياس وقت القتل الحرارى . وعند رسم العلاقة بين وقت القتل الحرارى ودرجة حرارة فانه يمكن الحصول على خطوط تشبه تلك الموضحة فى الشكل السابق (العلاقة بين D ودرجة الحرارة) وهذه العلاقة تعكس أيضا مدى حساسية ميكروب معين لدرجات الحرارة .

تؤثر طبيعة الوسط المستخدم لتعليق الخلايا عند تسخينها على الوقت اللازم لقتل الخلايا الخضرية أو حتى الجراثيم . فقتل الأحياء الدقيقة يكون أسرع فى الأوساط الحمضية عنه فى الأوساط المتعادلة . ولهذا السبب فان الأغذية الحمضية مثل منتجات الطماطم والفاكهة والمخللات تعقم أسهل من الأغذية المتعادلة مثل البسلة والفاصوليا واللحوم والأسماك وغيرها . كما أن التركيزات المرتفعة من السكريات والبروتينات والدهون عادة تزيد مقاومة الأحياء الدقيقة للحرارة . بينما تؤدى التركيزات المرتفعة من الملح الى زيادة أو نقص مقاومة الأحياء الدقيقة للحرارة وفقا لنوع الميكروب . كما أن الخلايا الجافة (والجراثيم) أكثر مقاومة للحرارة عن الخلايا الرطبة ، ولذلك فان تعقيم الأجسام الجافة بالحرارة الجافة يتطلب دائما درجات حرارة أعلى ولوقت أطول عنه للتعقيم بالحرارة الرطبة للمواد الرطبة .

وقد سبق وأن ذكرنا أن الجراثيم الداخلية للبكتيريا هى أكثر تركيبات الأحياء مقاومة للحرارة ، والمعتقد أن شدة المقاومة للحرارة ترتبط ارتباطا مباشرا بانخفاض نسبة الرطوبة فى هذه التركيبات الحية . فالمعروف أنه عند تكوين الجراثيم الداخلية يقل حجم البروتوبلازم الى أقل حد ممكن كنتيجة لتراكم الأيونات المعدنية مثل أيونات الكالسيوم وحمض الداى بيكولينيك Dipicolinic acid (وهو يوجد فى الجراثيم الداخلية للبكتيريا فقط) ويتحول البروتوبلازم بذلك الى حالة جيلية سميكة ، وعند هذه المرحلة يبدأ تكون جدار الجرثومة Cortex التى تكون شديدة اللمعان عند الفحص بالمجهر .

وترجع شدة مقاومة الجراثيم للحرارة الى محتوى البروتوبلازم من الرطوبة ، فكلما قلت الرطوبة زادت مقاومة الجراثيم للحرارة ، ويمكن تغيير مدى مقاومة جراثيم نوع من البكتيريا للحرارة بتغيير محتواها من الرطوبة .. فالرطوبة تتحرك بحرية الى داخل وخارج الجرثومة ولا يمنع جدار الجرثومة نفاذية الرطوبة ولكن مدى كثافة الحالة الجيلية gel-like structure للبروتوبلازم هو الذى يحدد مستوى الرطوبة فى الجراثيم ، كما أن جدار الجرثومة cortex المحكم على البروتوبلازم يتحكم فى عدم تشرب البروتوبلازم بالرطوبة . وعند اختفاء جدار الجرثومة cortex يختفى اللمعان ويبدأ البروتوبلازم فى التشرب بالرطوبة ، وتبدأ الجرثومة فى التحول الى الحالة الخضرية Germination .

البسترة والتعقيم :

البسترة هى استعمال معاملة حرارية خفيفة بهدف قتل الميكروبات المرضية وتقليل الميكروبات فى الأغذية كاللبن (الحليب) وعصائر الخضر والفاكهة المختلفة . وقد سميت بهذا الاسم نسبة لمبتكرها وهو العالم لويس باستير والذى ابتكرها للتحكم فى تلف الخمور . ولا تعتبر البسترة تعقيما للأغذية حيث أنها لا تؤدى الى قتل كل الأحياء الدقيقة فى الأغذية. وعند ابتكار هذه المعاملة الحرارية فانها كانت تهدف لقتل الميكروبات المرضية خصوصا تلك التى تسبب السل والبروسيللا والتيفود ، ولكن اكتشف أن هذه المعاملة الحرارية تؤدى أيضا الى زيادة قوة حفظ اللبن (الحليب) ،أما اليوم حيث تخضع معظم مزارع اللبن الى اشراف حكومى قوى فانه من النادر أن يتم الحصول على لبن ملوث بالميكروبات المرضية للأمراض المذكورة ، ومع ذلك فان البسترة مازالت شائعة ، وذلك لما تسببه من زيادة قوة حفظ اللبن (الحليب) .

بسترة الأغذية :

تتم عادة بامرار اللبن بطريقة مستمرة على مبادلات حرارية Heat

exchanger بحيث ترتفع درجة حرارة اللبن الى ٧١°م ، وتحتجز على هذه الدرجة أثناء مرورها لمدة ١٥ ثانية . ثم تبرد سريعا بعد ذلك ، وهذه الطريقة فى البسترة تسمى الطريقة المستمرة Continuous Pasterization وهى أفضل من الطريقة الأصلية للبسترة والمسماة طريقة الدفعات ، وفى طريقة البسترة بالدفعات يسخن اللبن الى ٦٥ — ٦٦°م ، وتحجز على هذه الدرجة لمدة ٣٠ دقيقة . والطريقة المستمرة أفضل من حيث أنهـا تناسب المصانع ذات الطاقة الانتاجية الكبيرة ، كما أنها تؤدى الى تغيرات أقل فى الطعم والرائحة .

التعقيم التجارى للأغذية :

يتم بمعاملة الأغذية بعد احكام غلقها داخل عبوات غير منفذة للأحياء الدقيقة على درجة حرارة كافية لقتل كل الأحياء الدقيقة المرضية والأحياء الدقيقة التى يمكن أن تسبب تلف الأغذية أثناء التخزين ، ولاجراء هذه العملية فى الأغذية غير الحمضية (التى لها pH = ٤ر٥ أو أعلى) يجب استخدام درجات حرارة أعلى من درجة غليان الماء (١٠٠°م) بما يحتم معه استخدام أجهزة تعقيم تحت ضغط ، وفى هذه الأجهزة عادة ما تستخدم الحرارة تحت ضغط يصل ١ر١ كجم/سم٢ (١٥ رطل / بوصة٢) وهذه المعاملة تنتج درجة حرارة تصل ٦ر١٢١°م . وتستخدم كثير من ربات البيوت حلل الطبخ تحت ضغط Pressure Cooker لتعقيم بعض المنتجات المنزلية ، ولكن يجب الحذر ، اذ أن استعمال عبوات كبيرة أو أغذية ذات لزوجة عالية أو ذات تركيز سكر عالى وغيرها قد لا يتم تعقيمة تعقيما كاملا اذا عرضت لدرجة حرارة التعقيم للفترة الزمنية المعتادة ، وهى ١٠ الى ١٥ دقيقة .

ثانيا : الماء ونشاط الماء

يعتبر الماء متطلبا أساسيا للحياة فى جميع الكائنات على اختلافها ، وتختلف كمية الماء فى مختلف البيئات . ولكن توفر الماء للأحياء لا يعتمد

على المحتوي المائى للبيئات المختلفة فقط بل أيضا يخضع لعوامل الامتزاز (الادمصاص Adsorption) والاذابة المختلفة والى أي مدي تكون قوة الامتزاز أو تركيز العناصر الذائبة والى قدرة الكائن على استخلاص هذا الماء رغما عن تلك العوامل المعقدة . أيضا فانه عند اذابة مادة ما (مذاب) في الماء فان المادة المذابة تتأدرت ويتوقف مدى توفر الماء للأحياء الدقيقة على درجة التأدرت. وهناك عدد من الطرق للتعبير عن مدى توفر الماء المتأثر بقوى الذوبان والامتزاز للأحياء الدقيقة ، ولكن أحد أبسط الطرق المعروفة هى ما يعرف بنشاط الماء Water activity. ويرمز لنشاط الماء بالرمز a_w وهو ما يعبر عن ضغط بخار الماء في الهواء أعلى محلول أو مادة ما ، ويمكن تقديره بقياس الرطوبة النسبية الناتجة عن البخر من هذا المحلول . ويمكن التعبير عن الرطوبة النسبية بالمعادلة التالية :

الرطوبة النسبية =

$$\frac{\text{كمية بخار الماء في حجم معين من الهواء عند درجة حرارة معينة .}}{\text{كمية بخار الماء اللازمة لتشبيع نفس الحجم من الهواء عند نفس الظروف}}$$

ويعبر عن الرطوبة النسبية في صورة نسبة مئوية ، أما نشاط الماء فيعبر عنه في صورة كسر مئوى ، فمثلا اذا كانت الرطوبة النسبية = ٧٥٪ فان نشاط الماء a_w يكون ٠,٧٥ .

ولتقدير نشاط الماء لمحلول أو مادة ما فانها توضع في حيز مغلق وتترك حتى يحدث اتزان مع الهواء ، ويمكن قياس الرطوبة النسبية بعد ذلك بواسطة جهاز قياس الرطوبة النسبية . ومن ذلك يمكن بسهولة استنتاج أن نشاط الماء يكون أكثر ما يمكن في حالة عدم وجود مواد مذابة به ، ويقل نشاط الماء كلما ارتفع تركيز المواد المذابة فيه . ولذلك فان نشاط الماء في بيئات البحار والانهار يكون مرتفعا نسبيا بينما ينخفض كثيرا في البيئات ذات التركيز المرتفع من المواد المذابة كالعسل أو العصائر المركزة .

نشاط الماء وتأثيره على نمو الأحياء الدقيقة :

عند انماء كائن حي دقيق في محلول له نشاط ماء منخفض نتيجة لوجود مادة مذابة فان هذا الكائن الحي عليه أن يبذل مجهودا اضافيا لاستخلاص الماء من ذلك المحلول وينتج عن هذا بطء النمو وقلة الناتج من الخلايا ، وتلاحظ هذه النتائج مع العديد من المواد المذابة التي تخفض نشاط الماء ، ولا يجب اغفال أن بعض المواد المذابة في حد ذاتها تكون ذات تأثير سام على الخلايا ، ولذلك فان مستنبتين غذائيين لهما نفس درجة نشاط الماء قد يؤثرا على النمو بدرجات مختلفة .

وكما سبق وذكرنا فان الضغط الأسموزى للسيتوبلازم في خلايا الأحياء الدقيقة يكون عادة مرتفعا عن الوسط الخارجي بما يسمح باستمرار مرور الماء من الخارج الى الداخل ، ولكن اذا ارتفع الضغط الاسموزى خارج الخلايا الى درجة أعلى من الضغط الأسموزى داخل الخلايا فان الميكروب لا يمكنه أن ينمو الا بزيادة تركيز المواد المذابة داخل الخلية وتستطيع بعض الأحياء الدقيقة ذلك أفضل من البعض الآخر ، أو بمعنى آخر تستطيع أن تنمو في محاليل ذات درجات منخفضة لنشاط الماء . والجدول (١٢ ـ٣) يبين الحدود التقريبية لنشاط الماء لبعض الأحياء الدقيقة . ومنه يتضح أن بعض الفطريات والخمائر تنمو أفضل من غيرها من الأحياء على درجات منخفضة من نشاط الماء .

ورغم أن كثيرا من المراجع تعتقد بأن تأثير تركيز المواد الذائبة يرجع الى تأثيرها على الضغط الأسموزى ، الا أن الاتجاه السائد حاليا يشير بأن تأثير تركيز المواد الذائبة يرجع الى تأثيرها في خفض نشاط الماء ، ورغم أن زيادة الضغط الأسموزى قد ترجع لزيادة تركيز مادة مذابة (سواء ملح أو سكر) في الماء الا أنه قد جرى العرف بأن يستخدم تعبير " المحبة للضغط الأسموزى المرتفع "Osmophilic للأحياء المحبة للتركيزات المرتفعة من السكر كمادة رافعة للضغط الأسموزى ، ولا يستخدم هذا التعبير Osmophilic للأحياء الدقيقة المحبة

جدول ١٢ـ٣ : الحد الأدنى التقريبى لنشاط الماء اللازم لنمو مجموعات الأحياء الدقيقة (عن براون ١٩٧٦)

Brown, A.D. Bacterial. Rev . 40:803 (1976)

نشاط الماء	البيئات السائلة	الأغذيــة	البكتيريـــا	الخمائر	الفطريات	الطحالب ذات النواه الحقيقيــة
١	الدم	الخضروات	Caulobacter sprillum spp			
٩٥ر		الخبز	معظم البكتيريا الموجبة لجرام	الخمائــر البازيديــة	الفطريــات البازيديــة	معظم مجموعات الطحالــب
٠ر٩٠		منتجات اللحوم المعالجة	معظم البكتيريا الكرويــة و Bacillus و lactobacillus	الخمائــر الأسكيــة Sacch.rouxii Debaryomyces فى الاملاح	Fusarium Mucor	
٠ر٨٠		المربيــات وكعكــات الفاكهــة		Sacch.bailii فى السكريات	Penicillium	
٧٥ر	البحيرات المالحــة	السمك المملح	Halobacterium Halococcus		Wallemia Aspergillus Chrysosporum	Dunaliella
٠ر٧٠		الحلويات والفاكهــة المجففــة وبعض منتجــات الحبوب				
٠ر٦٥					Eurotium	
٠ر٦٠				Sacch.rouxii فى السكريات		

للتركيزات العالية من الملح " وهو أيضا يسبب ارتفاع الضغط الأسمــوزى" ولكن يستخدم تعبير آخر وهو " الأحياء الدقيقة المحبة للتركيــــزات العالية من الملح " Halophilic .

وربما يرجع ذلك الى أن تأثير الملح بالنسبة للأحياء الدقيقة المحبة للملح لا ينحصر فقط فى زيادة الضغط الأسموزى للوسط الخارجى ، بل أن ايونات الصوديوم تلعب دورا هاما لثبات الجدار الخلوى وعدد من الانزيمات الخلوية ، كما فى جنس Halobacterium . ومما يجذب الانتباه أن الضغط الأسموزى للسيتوبلازم فى هذه البكتيريا لا يرجع لأيونات الصوديوم (Na^+) ولكن لأيونات البوتاسيوم (k^+) والجدول (١٢ـ٤) يوضح النسبة بين كلا من تركيزات أيونات الصوديوم والبوتاسيوم داخل وخارج بعض خلايا البكتيريا عند تنميتها فى تركيزات مختلفة من أملاح هذه العناصر .

جدول ١٢ـ٤ : التركيز الداخلى لكلوريدات الصوديوم والبوتاسيوم فى بعض أنواع البكتيريا .

اسم الميكروب	التركيز المئوى (وزن / حجم) خارج الخلايا NaCl	التركيز المئوى (وزن / حجم) خارج الخلايا KCl	النسبة بين التركيز داخل وخارج الخلايا Na^+	النسبة بين التركيز داخل وخارج الخلايا K^+
غير المحبة للملح Non halophiles				
ستافيلو كوكاس أورياس Staphylococcus aureus	٠ر٩	١٩ر	٧ر	٢٧
سالمونيلا أورينبرج Salmonella oranienburg	٠ر٩	١٩ر	٦ر	١٥
المحبة للتركيزات المتوسطة من الملح Moderate holophiles				
ميكروكوكاس هالود ينتريفيكانز Micrococcus halo-denitrificans	٥ر٩	٠٢ر	٣ر	١٢٠
فيبريوكوستيكولاس Vibrio costicolus	٥ر٩	٠٢ر	٧ر	٥٥
المحبة للتركيز المشبعة من الملح Extreme Halophiles				
سارسينا مورها Sarcina morrhuae	٢٣ر٤	٢٤ر	٨ر	٦٤
هالوبكتيريم سالناريم Halobacterium salinarium	٢٣ر٤	٢٤ر	٣ر	١٤٠

وقد جرى العرف على تقسيم الأحياء الدقيقة وفقا للضغط الأسموزى الذى تتحمله الى ثلاثة أقسام رئيسية هى :

١ـ أحياء دقيقة تتحمل الضغط الأسموزى المرتفع Osmotolerant :

تتحمل الضغط الأسموزى المرتفع ولكنها لا تتطلبه لنموها مثل بعض الفطريات والخمائر ·

٢ـ أحياء دقيقة تتطلب الضغط الأسموزى المرتفع Osmophilic

وهى لا تستطيع النمو عند ضغط أسموزى منخفض وتتطلب ضغطا أسموزيا مرتفعا لنموها ...

ومن أمثلة هذا القسم الفطر Xeromyces

٣ـ أحياء دقيقة عادية Normal :

وهى الأحياء الدقيقة التى لا تتطلب ولا تتحمل ضغطا أسموزيا مرتفعا ·

الأهمية البيئية لنشاط الماء :

من المهم التمييز بين تأثير الجفاف على النشاط الميكروبى وتأثير التجفيف على الحياة ، فبالرغم من كل النشاطات الميكروبية ستتوقف عند درجة نشاط الماء حوالى ٦٠ر الى ٦٥ر فان عددا كبيرا من الأحياء الدقيقة تقاوم الجفاف ، فعادة الخلايا الصغيرة تقاوم الجفاف أكثر من الخلايا الكبيرة ·

والخلايا المستديرة (الكروية) تقاوم الجفاف أكثر من الخلايا العصوية والخلايا ذات الجدر الخلوية السميكة (الموجبة لصبغة جرام) تقاوم الجفاف أكثر من الخلايا ذات الجدار الخلوى الرقيق (السالبة لصبغة جرام) وعلى سبيل المثال فان البكتيريا المسببة لمرض الزهري والمسماة Treponema pallidum وهى بكتيريا طويلة ذات جدار رقيق وحساسة جدا للجفاف لدرجة أنها تموت فور تعرضها للهواء ، ومن جهة أخرى فان البكتيريا المسببة لمرض السل والمسماة Mycobacterium tuberclosis

تقاوم الجفاف مقاومة عظيمة نظرا لاحتوائها على غطاء سميك من الدهون مما يمنع جفافها بسهولة ٠ كما أن الجراثيم (الأبواغ) الجنسية للطحالب والفطريات والأجسام الثمرية Cysts في البروتوزوا Protozoa تقاوم الجفاف أكثر من الخلايا الخضرية الناتجة عنها ٠ ومقاومة الجفاف تطيل عمر الكائنات الحية الدقيقة التي تنتشر في الهواء ٠ والخلية الجافة تكون كامنة من الوجهة الغذائية ٠

وتلك الخلايا الجافة اذا لم تتعرض للحرارة العالية أو أي ظروف بيئية أخرى فانها قد تظل كامنة لفترات زمنية طويلة ولكنها سرعان ما تستعيد نشاطها عند توفر الرطوبة اللازمة لانباتها ٠

ومن الوجهة البيئية فان البيئات الطبيعية ذات الضغط الأسموزي المرتفع تنحصر أساسا في بيئات ذات تركيز ملح مرتفع٠

البيئات الطبيعية ذات التركيز المرتفع من الملح :

يحتوي ماء البحر على حوالي ٣,٥٪ ملح الطعام NaCl (نشاط الماء = ٠,٩٨) مضافا اليه كميات صغيرة من عناصر وأملاح معدنية أخري ٠ والأحياء الدقيقة التي تعيش في البحر تتطلب كلوريد الصوديوم لنموها عند تركيزات مماثلة لتلك الموجودة في ماء البحر (بيئتها الطبيعية) ، ولكن نمو هذه الأحياء عادة ما يتأثر بارتفاع التركيز أو انخفاضه عن تركيز ماء البحر ٠ والأحياء الدقيقة البحرية تتطلب بصفة خاصة أيون الصوديوم (Na^+) لثبات الغشاء الخلوي ولنشاط العديد من انزيماتها ٠

ولا يمكن احلال البوتاسيوم (K^+) أو أيونات أخرى شبيهة في هذه الحالة بالصوديوم ٠

حيث أن خطوات صناعة ملح الطعام من ماء البحر تتضمن حجز ماء البحر في أحواض كبيرة تسمى الملاحات وتترك في ضوء الشمس لتبخير الماء ٠ فان ملح كلوريد الصوديوم يتركز الى أن يصل الى حوالي ٢٥ ٪

قبل بدء تبلوره من المحاليل الملحية المشبعة وينمو في هذه الملاحات عادة أنواع من بكتيريا محبة للماء حمراء وبنفسجية مما يكسب هذه الملاحات أحيانا ألوانا حمراء أو بنفسجية زاهية . كما ينمو في هذه الملاحات أيضا الطحالب المعروفة باسم Dunaliella saline .

وتنمو البكتيريا المحبة للملح أيضا على بعض منتجات الأغذية المملحة مثل الأسماك المملحة مكسبة اياها بقعا أو ألوانا حمراء أو بنفسجية . ويمكن تقسيم الأحياء الدقيقة وفقا لاحتياجاتها من كلوريد الصوديوم الى :

(١) الأحياء الدقيقة المحبة للملح اجباريا Obligate halophiles وهي أحياء تتطلب ملح كلوريد الصوديوم لنموها ، حتى وان لم يضاف ملح كلوريد الصوديوم في المستنبت بل تستمده الأحياء الدقيقة من المواد الأخرى في المستنبت ، فأيون الصوديوم وأيون الكلوريد شائعين في الطبيعة بكثرة ، ويندر أن يخلو منهما مستنبت غذائي ، وهذه المجموعة من الأحياء يمكن تقسيمها الى مجموعتين :

أ - المحبة للمحاليل المشبعة من الملح ، وهي الأحياء التي تتطلب اضافة ملح كلوريد الصوديوم لكي تنمو ، وهي لا تنمو الا في محاليل مشبعة من هذا الملح Nacl

ب - الأحياء الدقيقة المحبة للتركيزات المتوسطة من الملح Moderate halophiles وهي الأحياء التي تتطلب الملح لنموها ولكنها لا تنمو في المحاليل المشبعة .

(٢) الأحياء الدقيقة غير المحبة للملح Non-halophiles

أشارت بعض المراجع لوجود مثل تلك الأحياء ، الا أن تحضير مستنبتات تخلو من أيونات الصوديوم والكلوريد تماما تشكل صعوبة كبيرة لشيوع هذه الأيونات في الطبيعة بكثرة .

ومما هو جدير بالذكر أن البكتيريا المحبة للمحاليل المشبعة من الملح من جنس Halobacterium وهي ذات لون أحمر نتيجة وجود صبغة Bacteriorhodopsin ذات اللون القرمزي والتي تستطيع تثبيت

الضوء وانتاج ATP بميكانيكية تختلف عن ميكانيكية التمثيل الضوئي رغم خلو هذه البكتيريا من الكلوروفيل ٠ ورغم قدرة هذه البكتيريا على انتاج ATP من الضوء الا أنها لا تستطيع تحويل CO_2 الى مركبات عضوية كما يحدث في التمثيل الضوئي ، فهذه البكتيريا غير ذاتية التغذية كيميائيا ٠ ويعتقد أن قدرتها على انتاج الطاقة الكيميائية من الضوء ترجع الى أن بيئتها قد تخلو من الأكسجين أحيانا نتيجة وجود كميات كبيرة من الملح ذائبة في الماء ٠ وفي هذه الحالة فان القدرة على توليد طاقة من مصادر غير الأكسدة الهوائية بالأكسجين تصبح ضرورية ٠

ثالثا : الضغط ، Pressure

ويقصد به الضغط الواقع على الأجسام من البيئة المحيطة ، فالأحياء التي تعيش على سطح الأرض تتحمل ضغطا يماثل وزن عمود الهواء الواقع عليها ، وهو يعادل ١٤٫٧ رطل على البوصة المربعة ، ويسمى هذا بالضغط الجوى Atmospheric Pressure أما الأحياء التي تعيش على قمم الجبال العالية فيقع عليها ضغطا أقل من الضغط الجوى العادى ٠ أما الأحياء التي تعيش في قاع البحار والمحيطات فيقع عليها ضغوطا أخرى اضافية مساوية لارتفاع عمود الماء عند العمق الذى تعيش عنده ، وتسمى هذه الضغوط الواقعة على تلك الأحياء الدقيقة باسم الضغوط المائية Hydrostatic pressure ٠ والأحياء التي تعيش عند عمق ١٠٠ متر تحت سطح البحر تتحمل ضغطا مائيا مساويا لعشرة ضغوط جوية تقريبا ٠ واذا عرفنا أن أعمق نقطة في المحيط تقع في شمال الباسيفيك شرق الفيلبيين يصل عمقها الى حوالى ١٠٨٦٠ متر ويعادل الضغط المائى عندها حوالى ١١٠٠ ضغط جوى عادى ٠

يتحمل عدد كبير من الأحياء الدقيقة التي عزلت من المياه العميقة ضغوطا مائية مرتفعة وان اختلفت درجات تحمل هذه الأحياء للضغوط المرتفعة ٠ لذلك فانه يطلق على هذه الأحياء لفظ "أحياء تتحمل الضغط المائى العالى " Barotolerant أو أحياء اختيارية بالنسبة للضغط المائى Facultative barophilic ولا يمكن تسميتها " محبة

للضغط العالى Barophilic ". ولقد بذلت عدة محاولات بأجهزة حديثة يمكنها احضار عينات من قاع البحر تحت ضغط مائى مرتفع لمحاولة عزل " أحياء محبة للضغط اجباريا Obligate barophilic " وهى أحياء تنمو أفضل تحت الضغط المائى المرتفع . ولكن تلك المحاولات قد فشلت حتى الآن .

وتجب الاشارة الى أن معظم الأحياء الدقيقة المعزولة من التربة أو مياه سطحية تنمو أفضل ما يمكن تحت الضغط الجوى العادى مع اختلافات بسيطة ارتفاعا وانخفاضا عن الضغط الجوى العادى . ولكنها تتوقف تماما عن النمو أو تموت عند ضغوط مائية تتراوح بين ٢٠٠ الى ٦٠٠ ضغط جوى ، فالضغوط المائية المرتفعة تؤثر على نشاط معظم الانزيمات وميكانيكية بناء البروتينات فى الخلية وقدرة الأغشية الخلوية على التحكم فى نفاذية المواد من والى الخلية ، وعند تنمية خلايا الأحياء الدقيقة المعزولة من المياه السطحية تحت ضغوط مرتفعة نوعا فان عددا كبيرا من الخلايا لا ينقسم ويستمر فى الاستطالة مكونا ما يشبه الخيوط .

واذا كانت الأحياء الدقيقة المحبة للضغط المائى المرتفع اجباريا Obligate barophiles لا توجد فى الطبيعة ، فان ذلك قد يفسر البطء الشديد لتحلل المواد العضوية فى قاع البحار . فالمعروف أن الأحياء الاختيارية للضغط المائى المرتفع Facultative barophiles تنمو أبطأ كثير فى قاع البحر عنه عند الضغط الجوى العادى . وقد يرجع ذلك لسببين : أحدهما الضغط المائى المرتفع فى قاع البحر والثانى هو انخفاض درجة الحرارة عند القاع ، اذ أن درجة الحرارة عند القاع تكون عادة حوالى ١ °م . ولذلك فانه يمكن استنتاج أسباب البطء الشديد لتحليل المواد العضوية التى يتم التخلص منها فى البحار وتترسب فى القاع ، رغم أنها تتحلل بسرعة أكبر عند السطح .

رابعًا : الحموضة ودرجة تركيز أيون الأيدروجين

يتم التعبير عن الحموضة والقلوية لمحلول ما بما يعرف بدرجة تركيز

أيون الأيدروجين أو رقم pH ، وهو عبارة عن الأس السالب لتركيز أيون الأيدروجين في ذلك المحلول . وتركيز أيون الأيدروجين في الماء النقي = 10^{-7} مولر . وعلى ذلك فان رقم pH لهذا الماء هو ٧ وأرقام pH أقل من ٧ تمثل درجات من الحموضة بينما أرقام pH أكثر من ٧ تمثل درجات من القلوية . كما يجب تذكر أرقام pH هي في الحقيقة أرقام لوغاريتمية ... فعندما تكون pH لمحلول ما تساوى ٤ فان ذلك يعني أن حموضة هذا المحلول تعادل عشرة أضعاف حموضة محلول ذو رقم pH يساوى ٥ وتختلف أرقام pH في البيئات الطبيعية اختلافا كبيرا ، ويوضح الجدول رقم (١٢ ـ ٥) بعض أمثلة لأرقام pH في المواد المختلفة .

جدول ١٢ ـ ٥ : أمثلة لدرجات pH وما يقابله من درجة تركيز أيون الهيدروجين لبعض البيئات المختلفة .

	تركيز أيون الهيدروجين جم / لتر	pH	أمثلة
↑ اتجاه زيادة الحموضة	10^{-0} (١٠ ـ صفر)	صفر	
	10^{-1}	١	العصارة المعدية ـ التربة والمياه البراكين .
	10^{-2}	٢	عصير الليمون .
	10^{-3}	٣	الخل ـ الربارب ـ الخوخ .
	10^{-4}	٤	بعض أنواع التربة الحمضية ـ الطماطم والمخللات وكثير من الفاكهـة .
	10^{-5}	٥	الجبن .
	10^{-6}	٦	البسلة ـ الذرة ـ الأسماك والجمبرى (الروبيان) .
وسط متعادل	10^{-7}	٧	ماء مقطر نقي
↓ اتجاه زيادة القلوية	10^{-8}	٨	ماء البحر .
	10^{-9}	٩	بعض أنواع التربة شديدة القلويـة . .
	10^{-10}	١٠	بعض البحيرات القلوية ـ محاليل التنظيف .
	10^{-11}	١١	محاليل تنظيف الزجاج (الأمونيا) .
	10^{-12}	١٢	محاليل الجير المشبعة Lime
	10^{-13}	١٣	
	10^{-14}	١٤	

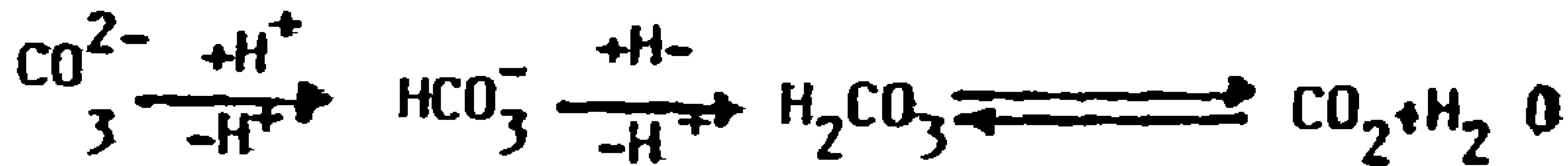
ولما كان من المرغوب فيه الاحتفاظ بثبات رقم pH للمزارع الميكروبية قدر الامكان فان المزارع الميكروبية كثيرا ما تحضر باستخدام ما يعرف بمنظمات Buffers تركيز أيون الأيدروجين ، وتتركب هذه المنظمات من مخلوط من حمض ضعيف ، وملحه أو قاعدة ضعيفة وملحها. ومثل هذه المخاليط تنتج أيون أيدروجين اذا سحبت أيونات الأيدروجين من الوسط أو تسحب أيونات الأيدروجين اذا أنتجت أيونات الأيدروجين في الوسط، وبذلك يظل تركيز أيون الأيدروجين في الوسط دون تغيرات جوهرية . توجد محاليل منظمة عديدة مختلفة كل منها لها القدرة على الاحتفاظ برقم pH في مجال معين . فمثلا في مجال pH من ٦ الى ٨ تعتبر منظم الفوسفات من أحسن المنظمات ، وهو يستعمل بكثرة في المزارع الميكروبية . أما في الأوساط الحمضية الضعيفة فيستعمل منظم السترات أما في الجانب القاعدى فيستخدم منظم البورات أو منظم الجلايسين . وفي حالة عدم استعمال منظمات لأى سبب فانه من الضرورى اضافة كميات صغيرة من حمض أو قلوى على فترات أثناء نمو المزرعة الميكروبية .

اذن لكل ميكروب مدى معين من أرقام pH يستطيع أن ينمو فيه ، بمعنى أنه لكل ميكروب حد أعلى وحد أدنى للنمو من أرقام pH كما يوجد حد أمثل للنمو من أرقام pH . ومعظم البيئات الطبيعية لها رقم pH يتراوح بين ٥ ، ٩ ، ولذلك فمعظم الأحياء الدقيقة في الطبيعة تنمو في هذا المجال من أرقام pH مع وجود أعداد أقل من الأحياء الدقيقة تنمو خارج هذا المجال . وقد وجدت أحياء دقيقة تستطيع النمو في بيئات حامضية يصل رقم pH لها الى أقل من واحد .

ولكن بعض الأحياء الدقيقة تستطيع تحمل أرقام pH منخفضة ، ولكنها عادة تنمو عند أرقام pH المتعادلة أو القريبة من التعادل ، وتسمى في هذه الحالة بالأحياء الدقيقة التي تتحمل الحموضة Facultative acidophiles مثل بعض الخمائر والفطريات ، أما تلك الأحياء التي تتطلب أرقام pH منخفضة لكي تنمو فهي تسمى أحياء دقيقة محبة للحموضة اجبارية Obligate acidophiles مثل بعض أنواع بكتيريا

Sulfolobus و Thermoplasma و Thiobacillus

وعندما تنتج مزرعة من المزارع كميات كبيرة من الحموضة فـــان المحاليل المنظمة قد لا يكون كافيا للاحتفاظ برقم pH بدون تغيير ٠ وفي مثل تلك الحالات قد يضاف للمزرعة كمية من الكربونات غير الذائبة مثــل كربونات الكالسيوم والتي تمثل حيئنذ "مخزنا قلويا" لاستيعاب كميــات الحموضة التي ستنتجها المزرعة ٠ كما تستخدم المزارع المحتوية علـــى كربونات لعزل الميكروبات المنتجة للأحماض،فالمستنبت المعقم المحتـــوى على الكربونات غير الذائبة يكون لونه أبيض ، وعندما ينمو عليه ميكروبا منتجا للأحماض فان الحمض الناتج يتفاعل من الـكربونات غير الذائبة (المترسبة) CO_3^- محولا اياها الى بيكربونات HCO_3^- ثم الى حمض كربونيك H_2CO_3 الذى يتحلل مباشرة الى غاز ثاني أكسيد الكربون CO_2 وماء وفقا للمعادلـة التاليــة :



$$CO_3^{2-} \underset{-H^+}{\overset{+H^+}{\rightleftarrows}} HCO_3^- \underset{-H^+}{\overset{+H^-}{\rightleftarrows}} H_2CO_3 \rightleftarrows CO_2 + H_2O$$

خامسًا : الأكسجين

يحتوى الهواء الجوى على ٢٠٪ أكسجين ، وعند واحد ضغــط جوى فان الأكسجين يشكل ٢ر ضغط جوى من ضغط الهواء ، وتعتمــد حياة الكثير من الأحياء على الأكسجين ٠ وعلى ذلك فان استجابـــة الأحياء الدقيقة للهواء تختلف اختلافا كبيرا ، ويمكن تقسيم الأحيـــاء الدقيقة بالنسبة لاحتياجاتها من الأكسجين الى أربعة مجموعات رئيسية :

١ـ هوائية اجبارية : Obligate aerobes

وهى أحياء دقيقة تتنفس تنفس هوائى ، ويعتبر الأكسجين أساسيا لحياتها ... ومعظم أفرادها تتطلب الأكسجين بتركيزه العادى فى الهواء الجوى ، الا أن بعض أفراد الميكروبات الهوائية الاجبارية تتطلب تركيــزا منخفضا من الأكسجين تسمى Microaerophiles ولا يمكنها أن تحيــا بدون الأكسجين تماما ٠

٢_ لاهوائية اختيارية : Facultative anaerobes

وهى أحياء دقيقة تتنفس هوائيا فى وجود الأكسجين، ولا هوائيا فى عدم وجود الأكسجين .

٣_ لاهوائية تتحمل وجود الهواء : Aerotolerant anaerobes

وهى أحياء دقيقة تتنفس لا هوائيا فقط ولكنها لا تتوقف عن النمو فى وجود الأكسجين ، بل تستمر فى النمو اللاهوائى .

٤_ لاهوائية اجبارية : Obligate anaerobes

وهى أحياء دقيقة تتنفس لا هوائيا فقط ولا يمكنها أن تحيا فى وجود الأوكسجين . وترجع سمية الأكسجين الى قدرته العالية على التفاعل ، فكل البكتيريا تقريبا تحتوى على انزيمات قابلة للتفاعل مع الأكسجين ، ويختلف عدد ونوع تلك الانزيمات القابلة للتفاعل مع الأكسجين. فعلى سبيل المثال تتأكسد الفلافو ـ بروتينات Flavoproteins بالأكسجين ، وتنتج مواد سامة وفوق أكسيد الأيدروجين H_2O_2 وكذلك بعض فوق الأكاسيد Superoxide (O^-_2) .

ولكن فى الأحياء الدقيقة الهوائية الاجبارية واللاهوائية والتى تتحمل وجود الهواء يتم التخلص من فوق الأكاسيد بواسطة انزيم ديسموتيز Superoxide dismutase لانتاج أكسجين وفوق أكسيد الأيدروجين ... ومن المعادلة التالية :

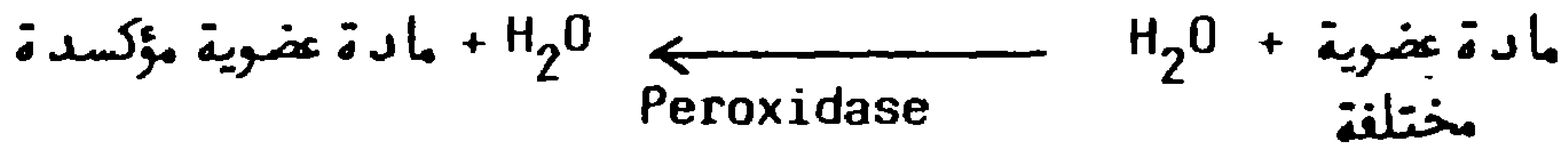


$$2\,O_2^- + 2H^+ \xrightarrow[\text{Superoxide dismutase}]{} O_2 + H_2O_2$$

وكل هذه الكائنات تتخلص من فوق أكسيد الأيدروجين بواسطة انزيم الكتاليز Catalaze وفق المعادلة الآتية :



أما بكتيريا حمض اللاكتيك وهى بكتيريا لا هوائية تتحمل وجود الهواء Aerotolerant anaerobe فهى لا تحتوى على انزيم الكتاليز ولكنها تتخلص من فوق أكسيد الأيدروجين بواسطة انزيم بيرأكسيديز Peroxidase والذى يقوم بأكسدة المواد العضوية بواسطة فوق أكسيد الأيدروجين وفق المعادلة التالية :



وقد ثبت أن جميع البكتيريا اللاهوائية الاجبارية لا تحتوى انزيم الديسميوتيز ولا انزيم الكتاليز بما يجعلها حساسة لوجود الأكسجين ·

وعندما استنبطت سلالة من بكتيريا القولون E.coli لا تنتج انزيم الديسميوتيز فان هذه السلالة تحولت من بكتيريا لاهوائية اختيارية الى لا هوائية اجبارية · وقد اتضح أيضا أن عددا من انزيمات البكتيريا اللاهوائية الاجبارية تكون حساسة لوجود الأكسجين ... وعلى سبيل المثال فان انزيم النيتروجينيز Nitrogenase (وهو أحد الانزيمات المسئولة عن تثبيت النيتروجين) يكون حساسا جدا لوجود الأكسجين ·

وتستطيع بكتيريا Pseudomonas - التى تؤكسد المركبات الحلقية والأليفاتية - الاستعاضة عن الأكسجين (فى أكسدة هذه المركبات العضوية تحت ظروف لا هوائية) بالنترات NO_3^- محولة اياها الى النيتروجين ، لذلك تسمى هذه البكتيريا باسم البكتيريا نازعة النترات - Denitryfying bacteria.

ويمكن التحكم فى نمو كثير من الأحياء الدقيقة بالتحكم فى الأكسجين. ففى صناعة تعليب الأغذية تتم عملية التعقيم التجارى والذى لا يؤدى الى قتل سائر الأحياء الدقيقة فى الأغذية المعلبة ولكن التعقيم التجارى يجب أن يقتل كل الأحياء الدقيقة اللاهوائية اجباريا واختياريا ، ومعظم الأحياء الدقيقة الهوائية اجباريا · وكثيرا ما يتبقى بالأغذية المعاملة بالتعقيم التجارى عدد من الأحياء الدقيقة الهوائية اجباريا ولكن مثل تلك الأحياء

الدقيقة المتبقية لا يمكنها النمو نظرا للظروف اللاهوائية في العلب بعد المعاملة الحرارية ، وبذلك لا يمكن أن ينتج عنها تلف للأغذية المعلبة الا اذا كانت عملية التعليب غير سليمة . كما أن كثيرا من الأغذية تعبأ تحت تفريغ أو فى وجود غاز خامل مثل غاز النيتروجين أو غيره من الغازات بهدف استبعاد الأكسجين أيضا . كما يلجأ بعض مصنعو الأغذية الى ضرورة ملء العبوات حتى الغطاء لاستبعاد أى قدر من الهواء داخل العلبة . وقد يلجأ أحيانا لوضع طبقة من الشمع أو الزيت فوق الأغذية التى يمكن أن تكون هدفا للغزو بالميكروبات الهوائية .

أما فى المختبرات فقد تستخدم اضافة طبقة الشمع فوق المستنبت لتحويل الظروف الى ظروف لا هوائية . وقد تضاف كيميائيات تعمل على امتصاص الأكسجين من جو وعاء المزرعة البكتيرية . كما قد يتم تلقيح المزارع البكتيرية اللاهوائية اجباريا فى جو من غاز خامل وغير ذلك من الطرق .

سادسًا : الإشعاع :

تتطلب بعض الأحياء الدقيقة وجود الضوء المرئى لكى تنمو وتتكاثر مستعملة الطاقة الضوئية ومحولة اياها الى طاقة كيميائية عن طريق التمثيل الضوئى Photosynthesis وتحتوى البكتيريا والبكتيريا الخضراء المزرقة التى تمثل الضوء على صبغات مختلفة أهمها الصبغات الخضراء التى تشبه الكلوروفيل النباتى . وتسمى هذه الصبغات باسم الكلوروفيل البكتيرى ، ويوجد منه عدة أنواع مختلفة . بينما تحتوى بعض البكتيريا المحبة للتركيزات المرتفعة من الملح مثل بكتيريا Halobacterium على صبغة قرمزية بكتيريورودبسين Bacteriorhodopsin (وهى تشبه صبغة الرودبسين Rhodopsin التى توجد فى عيون الحيوانات) . وهذه الصبغة أيضا قادرة على امتصاص الضوء وانتاج مركبات كيميائية غنية فى الطاقة كما سبق أن أشرنا عند مناقشة تأثير الضغط الأسموزى على نمو الأحياء الدقيقة .

وقد أشرنا فى جزء سابق عند مناقشة طرق التعقيم استعمال الاشعاع فى قتل الأحياء الدقيقة .

سابعًا ، العوامل الكيميائية :

تتأثر الميكروبات المختلفة بعوامل كيميائية مختلفة . وتختلف درجة التأثير على حسب نوع المادة الكيميائية ودرجة تركيزها والفترة الزمنية التي يتعرض لها الكائن الحي الدقيق ودرجة الحرارة ورقم pH ووجود مواد أخرى عند المعاملة بالعامل الكيميائي . وكذلك يتوقف تأثير المادة الكيميائية على عدد ونوع الأحياء الدقيقة وغيرها من العوامل . ولا بد من الاشارة الى أن نمو ونشاط الأحياء الدقيقة يتأثر ليس فقط بمدى توفر العناصر الغذائية المختلفة التي سبق الاشارة اليها في تغذية الأحياء الدقيقة ، بل ان نشاط ونمو الأحياء الدقيقة المختلفة يتأثر بتركيز كل عنصر من تلك العناصر . فالماء (الرطوبة) في الوسط الغذائي هي عنصر غذائي هام لكل الأحياء الدقيقة ، وعدم وجود الرطوبة بنسب كافية في الوسط الغذائي ينتج عنه عدم نمو الأحياء الدقيقة . وتستخدم هذه الوسيلة لحفظ كثير من الأغذية . فتجفف الأغذية تجفيفا شمسيا أو تجفيفا صناعيا بهدف ازالة هذا العنصر الغذائي الهام ، وبذلك يمتنع نمو الأحياء الدقيقة على الأغذية المجففة ، ويمكن حفظها حتى دون تبريدها أو تعقيمها .

وكمثال آخر على أهمية تركيز العناصر الغذائية على نمو ونشاط الأحياء الدقيقة فان السكر يعتبر مصدر كربون وطاقة للعديد من الأحياء الدقيقة . ووجود السكر بتركيزات منخفضة (في وجود سائر العناصر الغذائية الأخرى) ينتج عنه نمو الكثير من الأحياء الدقيقة ، ولكن زيادة تركيز السكر يؤدى الى تقليل نشاط أو منع نمو أحياء دقيقة معينة وتشجيع نشاط أحياء أخرى على النمو . وعندما يصل تركيز السكر الى ٧٠٪ يتوقف نشاط جميع الأحياء الدقيقة . ويستخدم هذا الأساس في انتاج المربا وغيرها من الأغذية التي تحفظ بالنسبة العالية من السكر . والمربات التي تحتوى على هذه النسبة من السكر وتعبأ بطريقة جيدة يمكن حفظها على درجة حرارة الغرفة دون الخوف من نشاط الأحياء الدقيقة عليها .

وبالمثل يمكن الاشارة الى الملح ، فالمعروف أن الأحياء الدقيقة المختلفة تتحمل تركيزات مختلفة من الملح . ويستخدم هذا الأساس كثير

من الصناعات فيتم التحكم فى نشاط أحياء دقيقة معينة بواسطة تركيزات مختلفة من الملح • ففى صناعة بعض منتجات الألبان مثل الجبن أومنتجات اللحوم كالسجق Susage أو المخللات تستخدم نسب مختلفة من الملح تسمح بنشاط بعض الأحياء الدقيقة دون غيرها ، وذلك للحصول على منتجات معينة ، كما يستخدم التمليح الجاف (كما فى بعض منتجات اللحوم والأسماك) بهدف ايقاف نشاط الأحياء الدقيقة تماما •

كما انه يمكن التحكم فى نمو ونشاط الأحياء الدقيقة بالتحكم فى تركيز مصدر أى عنصر من العناصر الغذائية اللازمة للأحياء الدقيقة مثل الكربون أو النيتروجين أو الفوسفور أو الكبريت أو غيرها من العناصر الغذائية المختلفة • ويستخدم هذا الأساس فى التعرف على كثير من الأحياء الدقيقة كالبكتيريا والخمائر وغيرها بتوفير مصدر كربونى واحد أو مصدر نيتروجينى واحد فقط للكائن الحى المراد التعرف عليه ودراسة امكانية استخدام هذا المصدر بواسطة الكائن الحى ومنها يتم التعرف عليه •

واذا أمكن التحكم فى نشاط ونمو الأحياء الدقيقة بواسطة العناصر الغذائية وتركيزاتها • فانه يمكن أيضا التحكم فى نشاط ونمو الأحياء الدقيقة بواسطة الكثير من المواد المضادة لنشاط الأحياء الدقيقة Antimicrobial agents أو شبيهات عوامل النمو Growth-factor analogs

المواد المضادة لنشاط ونمو الأحياء الدقيقة

Antimicrobial agents

وهى عبارة عن مواد كيميائية تقتل أوتثبط نشاط ونمو الأحياء الدقيقة ، وهذه المواد قد تكون طبيعية أو منتجات صناعية • والمواد الطبيعية ذات القوة المضادة للأحياء الدقيقة تسمى مضادات حيوية. ويتم انتاج مضادات حيوية عديدة بواسطة العديد من الأحياء الدقيقة •

أما المنتجات الصناعية ذات القوة المضادة للأحياء الدقيقة فانها تسمى وفقا لفعلها ضد الأحياء الدقيقة ، فهذه المنتجات الصناعية اما أن تكون مثبطة فقط لنشاط الأحياء الدقيقة دون قتلها Germistatic agents والمواد المثبطة لنشاط الأحياء الدقيقة تنتهى بالمقطع Static = . فمثلا

تسمى مثبطات البكتيريا Bacteriostatic agents وتسمى مثبطات الفطريات Fungistatic وتسمى مثبطات الطحالب Algistatic والمواد ذات التأثير المثبط لجميع أنواع الأحياء الدقيقة تسمى Germistatic . أما المواد التي تقتل الأحياء الدقيقة فتسمى Germicides أو Germicidal agents ، والمبيدات تنتهى دائما بالمقطع Cidal – واذا كانت هذه المبيدات متخصصة لأحد أقسام الأحياء الدقيقة فتسمى باسمها ، فمبيدات البكتيريا تعرف باسم Bactericidal agents أو Bactericides ومبيدات الفطر تسمى Fungicidal agents أو Fungicides ومبيدات الطحالب Algicides أو Algicidal agents وهكذا .. واذا كانت المادة المبيدة ذات تأثير واسع وتقتل جميع الأحياء الدقيقة فتسمى Germicides . وقد تقسم المواد المبيدة للأحياء الدقيقة Germicides وفقا لتأثيرها على الجلد والأغشية المخاطية فتقسم الى :

مواد مطهرة للجلد : Antiseptics

وهى مواد قاتلة للأحياء الدقيقة ومأمونة الاستعمال لتطهير الجلد والأغشية المخاطية رغم أنها قد لا تكون مأمونة لتعاطيها داخليا ، وتستخدم لتطهير الجلد والجروح والأغشية المخاطية .

مواد مطهرة للأسطح : Disinfectants

وهى مواد قاتلة للأحياء الدقيقة وليست مأمونة الاستعمال مع الجلد أو الأغشية المخاطية أو الأنسجة الحية ، ويقتصر استعمالها على تعقيم الطاولات والأرضيات والترابيزات والأطباق وغيرها .

وقد يكون تقسيم المواد المضادة للأحياء الدقيقة الى مبيدات ومثبطات تقسيم تقريبى أحيانا وذلك لأن بعض المواد قد تكون مبيدة عند تركيز مرتفع وتكون مواد مثبطة عند تركيز منخفض .

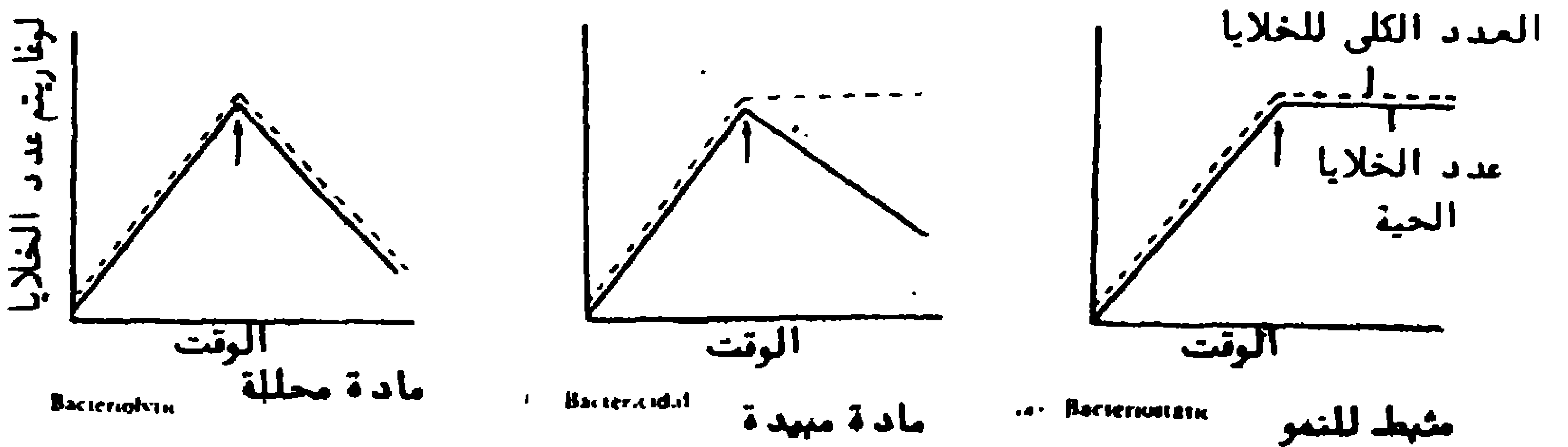
ويجب تواجد المادة المثبطة باستمرار لاستمرار فعلها فى التثبيط ، اذ أن زوال المادة المثبطة يسمح بنمو الأحياء الدقيقة . أما المواد المبيدة

فهى تؤدى الى قتل الأحياء الدقيقة ، فاذا أزيلت المادة المبيدة بعد ذلك دون اعادة التلوث فان الأحياء الدقيقة لا تنمو . ومعظم المواد الكيميائية التى تستخدم لحفظ الأغذية ذات تأثير مثبط Static للأحياء الدقيقة ، ويجب استمرار تواجدها بالغذاء والا تعرض الغذاء للتلف ، لذلك يجب أن تكون هذه المواد الحافظة غير سامة للانسان . كما أن بعض المواد الكيميائية التى تستعمل لعلاج بعض الأمراض الناتجة عن ميكروبات هى من نوع المواد المثبطة أيضا ، ويجب استمرار تواجدها بالجسم حتى تبدأ أجهزة الدفاع فى الجسم فى مكافحة تلك الأحياء الدقيقة . ويجب أن تكون مثل تلك الكيميائيات غير سامة للجسم أيضا ...

ومن المميزات الهامة لعدد من المواد ذات القوة المضادة للأحياء الدقيقة هو سميتها للاختيارية . بمعنى أن تكون تلك المواد مؤثرة على ميكروب معين يسبب مرضا لنبات أو حيوان أو انسان دون أن تؤثر هذه المواد على العائل نفسه أو أنسجته . ومثل تلك المواد تكون ذات أهمية طبية لعلاج المرض الناتج عن هذا الميكروب ، كما أن بعض المواد المضادة للأحياء الدقيقة تكون فعالة على ذوات النواة البدائية دون أى تأثير على ذوات النواة الحقيقية ، وهذه مهمة طبيا فى معالجة الأمراض التى تسببها البكتيريا . كما أن بعض المبيدات تكون فعالة على ذوات النواة الحقيقية (طحالب ـ فطريات ـ بروتوزوا) دون تأثير على خلايا الانسان والحيوان (وهى أيضا من ذوات النواة الحقيقية) وهذه الكيميائيات أيضا تعتبر هامة من الناحية الطبية . والكثير من المواد المضادة للأحياء الدقيقة تؤثر على نشاط خلايا الانسان والحيوان . وتلك أهميتها قليلة فى علاج الأمراض ، أما تلك المواد التى تهاجم الأحياء الدقيقة دون التأثير على خلايا الانسان تسمى المواد الكيميائية العلاجية أو الأدوية Chemotherapeutic agents.

ويمكن معرفة ما اذا كانت مادة كيميائية مضادة للأحياء الدقيقة ذو تأثير مثبط أو مبيد أو محلل للبكتيريا Bacteriolytic باضافة المادة المراد اختبارها الى مزرعة نامية فى مرحلة النمو اللوغاريتمى Exponential Phase ثم ملاحظة ما يطرأ على المزرعة من تغير

بالنسبة للعدد الكلى للبكتيريا ولعدد الخلايا الحية (ويمكن قياس العدد الكلى للبكتيريا بالعد المباشر بالمجهر أو بقياس درجة التعكير Turbidity أو الامتصاص الضوئى Absorbancy . أما عد الخلايا الحية فيلزم معه تخفيف المزرعة لدرجة كبيرة بحيث يكون تركيز المادة المضادة بعد التخفيف غير مانع لنمو الخلايا المفردة لتكوين مستعمرات على الأطباق ، وأما ضرورة ازالة المادة المضادة للبكتيريا اما بالطرد المركزى أو بالترشيح خلال مرشحات البكتيريا ثم اعادة تعليق الخلايا فى حجم مساو للمحلول قبل بدء عد الخلايا الحية) . فاذا كانت المادة المضادة للأحياء الدقيقة من النوع المثبط للبكتيريا فانه عند اضافة هذه المادة يثبت العدد الكلى وعدد الخلايا الحية مباشرة بعد اضافة المادة المضادة للأحياء الدقيقة . أما اذا كانت المادة المضادة للأحياء الدقيقة من النوع المبيد فان العدد الكلى يثبت ، بينما تنخفض عدد الخلايا الحية انخفاضا واضحا بعد اضافة المادة المضادة للأحياء الدقيقة .



شكل ١٢ـ٦ : التأثيرات المختلفة للمواد المضادة للأحياء الدقيقة ...

أ ـ مادة مثبطة للأحياء الدقيقة حيث يثبت العدد الكلى وعدد الخلايا الحية بعد اضافة المادة .

ب ـ مادة قاتلة (مبيدة) للأحياء الدقيقة حيث يقل عدد الخلايا الحية بينما يثبت العدد الكلى بعد اضافة المادة .

جـ ـ مادة محللة للأحياء الدقيقة حيث يقل العدد الكلى وعدد الخلايا الحية بعد اضافة المادة .

أما اذا كانت المادة المضادة للأحياء الدقيقة من النوع المحلل للبكتيريا (مثل المواد المثبطة لبناء الجدار الخلوى أو التى تخل بخاصية شبه النفاذية للغشاء الخلوى) فان كلا من العدد الكلى وعدد الخلايا الحية من البكتيريا ينخفض انخفاضا ملحوظا بعد اضافة المادة المضادة للأحياء الدقيقة (شكل ١٢ ـ ٦) ٠

طريقة تقدير المواد المضادة للأحياء الدقيقة :

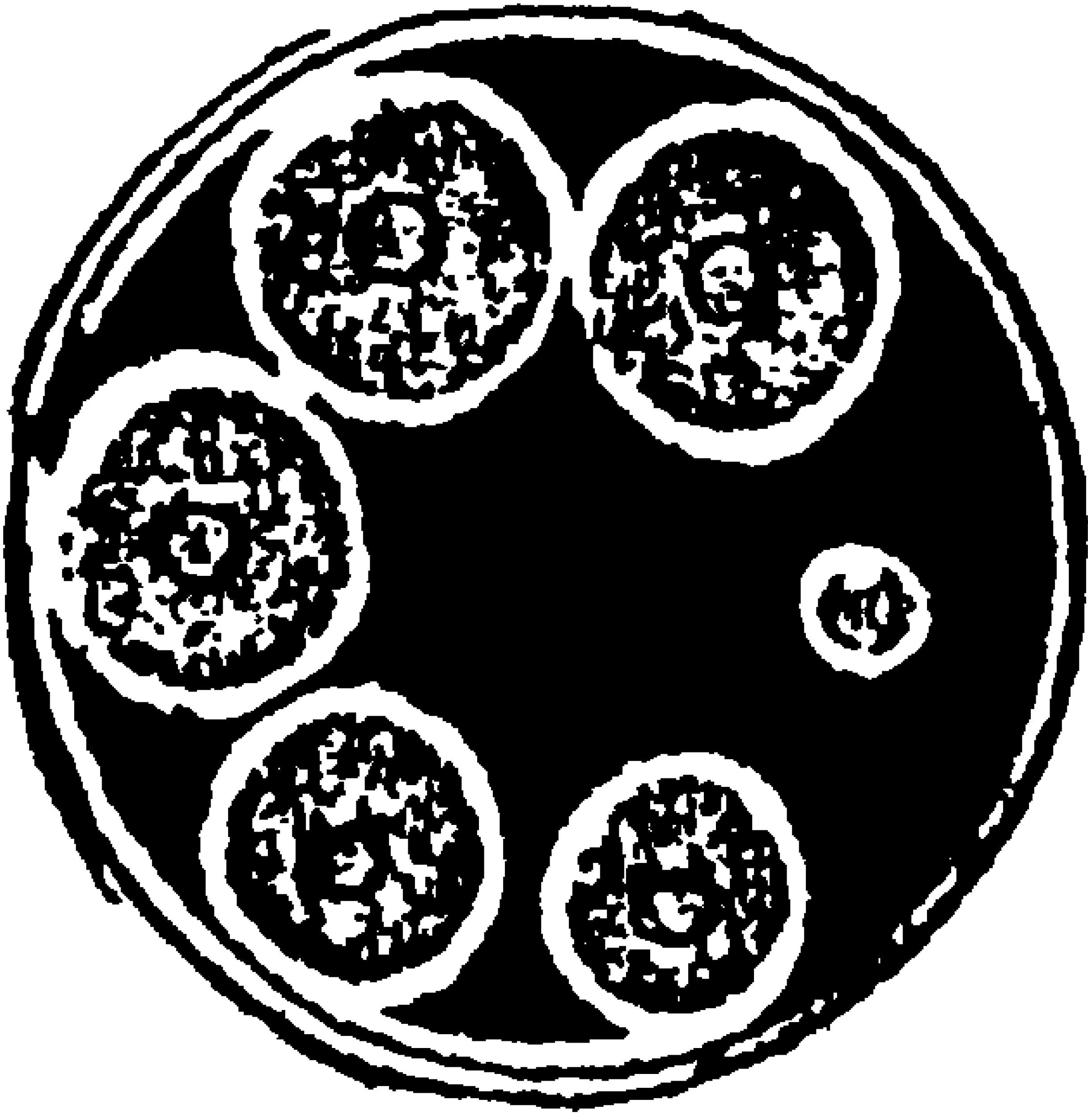
توجد طرق كثيرة لتقدير القوة المضادة للأحياء الدقيقة لمادة ما ، ولكن طريقة تقدير أقل تركيز مثبط للنمو Miniral Inhibitory Concentration (MIC) هي من أكثر الطرق شيوعا وهى عبارة عن أقل تركيز من المادة المضادة للأحياء الدقيقة يمكنه ايقاف نمو الميكروب المختبر ٠ ويمكن اجراء ذلك باضافة تركيزات متزايدة من المادة الكيميائية السامة فى سلسلة من أنابيب الاختبار المحتوية على مستنبت سائل ملقح بكميات لقاح موحدة ثم تحضن على درجة الحرارة المناسبة ثم يقدر النمو بكل انبوبة (كل تركيز من المادة السامة) باستعمال طريقة التعكير أو أى طريقة أخرى مناسبة ٠ وبذلك يمكن معرفة أقل تركيز من المادة الكيميائية يمكنه أن يوقف نمو الميكروب المختبر وهو عادة بين تركيز الأنبوبة التى لم يحدث بها نمو اطلاقا وتركيز الأنبوبة المجاورة لها فى اتجاه تناقص التركيز والتى حدث بها نمو واضح ٠ وتسمى هذه الطريقة طريقة التخفيف فى أنابيب Tube dilution method.

ومن الطرق الشائعة أيضا لتقدير القوة النسبية المضادة للأحياء الدقيقة لمادة ما هى طريقة الانتشار خلال الآجار Agar diffusion method وذلك اما باستعمال أقراص من أوراق الترشيح Filter paper disc method توضع على سطح الآجار أو بطريقة عمل آبار Wells فى الآجار بواسطة اسطوانة معدنية ، ثم وضع كميات محددة من التركيزات المختلفة لهذه المادة الكيميائية فى تلك الآبار ، وفى كلا الطريقتين يعد الآجار المناسب والخالى من المادة الكيميائية السامة المراد اختبارها ٠

وبعد اعداد الآجار يلقح بالميكروب المناسب للاختيار ثم يصب في أطباق ويترك ليتصلب. وفي طريقة أقراص ورق الترشيح توضع الأوراق المشبعة بتركيزات معينة من المادة الكيميائية على سطح الآجار على مسافات متباعدة ثم تحضن على الدرجة المناسبة.

أما في طريقة الآبار فتوضع كميات مناسبة من التخفيفات المختلفة من المادة الكيميائية المراد اختبارها في الآبار ثم تحضن الأطباق على الدرجة المناسبة لنمو ميكروب الاختبار.

تنتشر المادة الكيميائية السامة من ورق الترشيح أو من الآبار خلال الآجار المحيط وتمنع نمو الميكروب في الآجار اذا كان تركيزها كافيا لوقف أو قتل الميكروب في الأماكن التي تصل اليها. ولكن ينمو الميكروب في المناطق الأخرى التي لا تصلها المادة السامة أو يكون تركيزها فيها غير مؤثر على نمو الميكروب المختبر ينشأ عن ذلك ظهور مناطق رائقة Clearing zone خالية من النمو حول أقراص ورق الترشيح أو الآبار، وتسمى هذه المنطقة الخالية من النمو باسم Zone of inhibition وتقدر فعالية المادة المضادة للأحياء الدقيقة بقياس قطر أو نصف قطر المنطقة الرائقة. وتتميز طريقة الانتشار خلال الآجار بامكان اختبار عدة مواد كيميائية أو عدة تركيزات من نفس المادة على طبق واحد من أطباق الآجار المذكورة (شكل ١٢ـ٧). من الضروري دائما توحيد ظروف الاختبار، اذ أن مساحة المنطقة الرائقة تتوقف ليس فقط على حساسية الميكروب للمادة المختبرة، بل أن طبيعة المستنبت المستخدم لانماء الميكروب ومدة تحضين أطباق الآجار ومعدل انتشار المادة الكيميائية في الآجار وتركيز المادة الكيميائية كلها عوامل تؤثر في حجم المناطق الرائقة الناتجة. وحتى مع توحيد ظروف التجربة قد تكون بعض النتائج المتحصل عليها لا تعكس مدى فعالية مادة كيميائية معينة أو مضاد حيوى معين، فبعض المضادات الحيوية أقل انتشارا في الآجار عن غيرها. فالمواد ذات الوزن الجزيئي الكبير أقل انتشارا في الآجار عن المواد ذات الوزن الجزيئي الصغير.



شكل ١٢ـ٧ : المناطق الرائقة حول آبار في الآجار توضح تثبيط النمو لمزرعة Staphylococcus aureus التى لقحت على الطبق . وضعت كميات من مضادات حيوية مختلفة فى الآبار لمعرفة أيها يوقف نمو هذا الميكروب. والآبار التى يوجد حولها مناطق رائقة توضح فعالية هذه المضادات ضد الميكروب المختبر....

كما أن بعض المواد ترتبط بالآجار فيمنع انتشارها وينتج عن ذلك مناطق رائقة صغيرة .

ان استخدام المواد الكيميائية لعلاج الأمراض يعتبر من أهم الاكتشافات فى مجال الطب. ورغم أن العلاج بالنباتات الطبية والأعشاب وغيرها من المواد الطبيعية كان معروفا ، الا أن اكتشاف السمية الاختيارية Selective toxicity لمواد معينة فى حوالى عام ١٩٠٠م بواسطة العالم الألمانى ايرلخ Paul Ehrlich كان ذو فضل عظيم فى بدء استعمال الكيميائيات فى العلاج وذلك عندما اكتشف أن بعض الصبغات تصبغ الأحياء الدقيقة ولا تصبغ أنسجة الحيوان ، وافتراض ايرلخ فى ذلك الوقت أن مثل تلك الصبغة تكون غير قادرة على الاتحاد مع أى مكون من مكونات خلايا أنسجة الحيوان وعلى ذلك فهى لا تؤثر على خلايا الحيوان ، واعتقد ان وجود كيميائيات بمثل هذه الصفات تكون بمثل الطلقات النارية السحرية Magic bullets حيث تصيب الأحياء الدقيقة المرضية ولا تؤثر على خلايا الشخص المريض . وبعد اختبار العديد من المواد الكيميائية لمثل تلك الصفات اكتشف عددا منها أهمها مادة السالفرسان Salvarsan وهى تستخدم لعلاج مرض الزهرى Syphilis . وفى عام ١٩٣٠م اكتشف العالم جيرهارد دوماك Gerhard

Domagk مركبات السلفا والتى استخدمت لعلاج كثير من الأمراض، ثم اكتشف بعد ذلك مركب البرونتوسيل Prontosil التى أظهرت تأثيرا واضحا على الفئران المصابة بالبكتيريا السبحية Streptococus ولكن هذه المادة لم يكن لها تأثير على نفس الميكروب فى أنبوبة الاختبار. واتضح بعد ذلك ان مادة البرونتوسيل تتحلل فى الجسم الى السلفانيلاميد Sulfanilamid وهى المادة الفعالة. وبعد ذلك اكتشف أن مادة بارا أمينو بنزويك تعادل فعل السلفانيلاميد بالنسبة للبكتيريا السبحية Streptococcus وأدى هذا الى اكتشاف شبيهات عوامل النمو.

ورغم أن مركبات السلفا ساعدت كثيرا من المرضى، الا أنه لم يمكن من السيطرة التامة على الأمراض بمركبات السلفا. وكان اكتشاف البنسلين صدفة بواسطة العالم الاسكتلندى فلمنج عام ١٩٢٩ م خطوة أخرى على طريق مكافحة الأمراض، فتم انتاج البنسلين على نطاق تجارى لمعالجة الجنود أبان الحرب العالمية الثانية، وبنهاية هذه الحرب أصبح البنسلين متوفرا بكثرة للمدنيين. ثم اكتشف العديد من المضادات الحيوية بعد ذلك أدت الى شفاء كثير من المرضى فى وقت قصير، وقللت نسبة الوفيات فى المواليد والأطفال وأصبحت كثير من الأمراض التى كانت تأخذ العديد من الأرواح لاتزيد حاليا عن كونها دراسة طبية.

وفيما يلى نعرض للمواد المضادة للأحياء الدقيقة (المضادات الحيوية Antibiotics ومبيدات الأحياء الدقيقة Germicides وكذلك شبيهات عوامل النمو).

١ـ المضادات الحيوية : Antibiotics

المضادات الحيوية هى مواد كيميائية تنتجها أحياء دقيقة ولها القدرة على قتل أو تثبيط نمو أحياء دقيقة أخرى. وقد تم اكتشاف الآلاف من المضادات الحيوية ولكن يوجد منها عدد قليل نسبيا ذو أهمية عملية فى الطب.

يشيع انتاج المضادات الحيوية بين الأحياء الدقيقة بهدف اعطاء

الأحياء المنتجة لها القدرة على ايقاف نشاط الأحياء الدقيقة الأخرى والأحياء الدقيقة المنتجة للمضادات الحيوية تكثر فى التربة وأهمها :

أ ـ الفطريات وخاصة فطريات الجنس Penicillium الذى ينتج مادة البنسلين .

ب ـ البكتيريا التابعة لجنس باسيلس Bacillus وهى تنتج مادة الباستراسين Bacitracin ومادة البوليمكسين Polymyxin.

جـ ـ البكتيريا الخيطية Actinomycetes التابعة لجنس Streptomyces والذى ينتج مضادات حيوية مثل الاستربتومايسين Streptomycin والتتراسيكلين Tetracycline والكلورامفينكول Chloramiphinicol والايرثرومايسين Erythromycin .

ويمكن تقسيم المضادات الحيوية الى مجموعات ذات تركيب كيميائى متشابهة . ومثل تلك المضادات تكون ذات تأثير متشابه، وعلى سبيل المثال توجد مجموعة كبيرة من البنسلين ولو أن كلها تؤثر على البكتيريا الا أن بعضها تكون فعالة أكثر على البكتيريا الموجبة لصبغة جرام بينما يكون البعض الآخر أكثر فعالية على البكتيريا السالبة لصبغة جرام .

ويختلف تأثر الأحياء الدقيقة بالمضادات الحيوية . فبعض المضادات الحيوية متخصص لذوات النواة الحقيقية وبعضها متخصص لذوات النواة البدائية وفقا لمركز التأثر فى الكائن الحى الدقيق (جدول ٢ـ٢) . كما أن بعض المضادات الحيوية تؤثر فى البكتيريا الموجبة لصبغة جرام وبعضها يؤثر فى البكتيريا السالبة لصبغة جرام . كما أن بعض المضادات الحيوية تؤثر فى كلا من البكتيريا الموجبة والسالبة لصبغة جرام، وهذه المضادات الحيوية ذات المدى الواسع Broad spectrum antibiotics.

٢ـ مبيدات الأحياء الدقيقة : Germicides

تستخدم مبيدات الأحياء الدقيقة عندما يستحيل أو يكون من غير العملى استعمال الحرارة للتعقيم . فتحتاج المستشفيات الى ضرورة تعقيم بعض الأدوات وكذلك المعدات الحساسة للحرارة المرتفعة مثل

الترمومترات وبعض أدوات الجراحة والمعدات ذات العدسات وأكياس وأنابيب البوليثيلين ومعدات التخدير • كما أن مصانع الأغذية كثيرا ما تحتاج الى ضرورة معاملة الأرضيات والحوائط بمبيدات الأحياء الدقيقة بهدف خفض حمولتها الميكروبية كما تعامل مياه الشرب كثيرا بمبيدات الأحياء الدقيقة للتخلص من الأحياء الدقيقة الضارة • كما يجب معاملة مياه المجارى بمبيدات الأحياء الدقيقة بعد معالجتها وقبل صرفها فى البيئة •

ولا تعنى المعاملة بمبيدات الأحياء الدقيقة تمام التعقيم ، اذ أن كثيرا من مبيدات الأحياء الدقيقة لا يستطيع قتل جراثيم البكتيريا أو حتى الخلايا الخضرية لميكروب السل Mycobacterium tuberclosis ولكن المعاملة بمبيدات الأحياء الدقيقة لا شك أنها تقتل معظم البكتيريا المرضية غير المتجرثمة وتقلل الحمولة الميكروبية عموما ، والجدول (٣ـ١) يلخص أكثر مبيدات الأحياء الدقيقة استعمالا وموقع تأثيرها على الأحياء الدقيقة •

٣ـ شبيهات عوامل النمو Growth-Factor Analogs

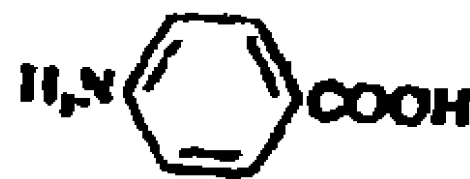
عند مناقشة تغذية الأحياء الدقيقة أشرنا الى أن عوامل النمو هى مواد كيميائية خاصة تحتاجها بعض الأحياء الدقيقة فى المستنبت الغذائي وذلك لأن مثل تلك الأحياء الدقيقة لا تستطيع بناء هذه المواد الكيميائية بنفسها • وعند وجود عوامل النمو المذكورة فى المستنبت أو الوسط الغذائى فان الميكروب ينمو نموا طبيعيا ، ولكن عند استبدال عوامل النمو بمواد شبيهة بعوامل النمو من الناحية التركيبية فان شبيهات عوامل النمو تدخل مكان عوامل النمو الأساسية وتعوق استعمال عوامل النمو الأصلية • ولو أن شبيهات عوامل النمو تشبه عوامل النمو الأساسية من الجهة التركيبية الا أنها تختلف عنها اختلافا جوهريا من الناحية الوظيفية ، فلا تستطيع شبيهات عوامل النمو القيام بنفس العمل الذى تقوم به عوامل النمو نفسها ، وكان أول شبيهات النمو التى اكتشفت هى مركبات السلفا Sulfa drugs وقد استخدمت لعلاج بعض الأمراض

نتيجة قدرتها على تثبيط نمو البكتيريا المسببة لتلك الأمراض دون تأثيرها على الانسان نفسه ·

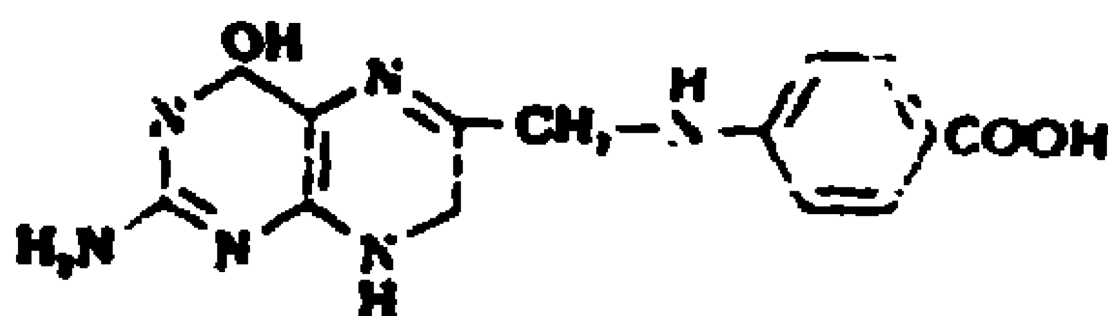
وأبسط مركبات السلفا المعروفة هي مركب السلفانيلاميد Sulfanilamide (شكل ١٢ـ٨) وهو مركب شبيه بحمض بارا أمينو بنزويك (شكل ١٢ـ٩) الذى يشكل نواة لتكوين الفيتامين المعروف باسم حمض الفوليك Folic acid (شكل ١٢ـ١٠) · ففى الأحياء التى تقوم ببناء حمض الفوليك بنفسها مثل العديد من البكتيريا فان مركب السلفانيلاميد يعوق تكوين حمض الفوليك ، ولذلك يكون مركب السلفانيلاميد فعالا ضد تلك البكتيريا ، ولا يكون السلفانيلاميد فعالا ضد الانسان والحيوانات الراقية ، نظرا لأن الانسان والحيوانات الراقية لا يبنون حمض الفوليك ، بل يتناولونه فى غذائهم ·



شكل ١٢ـ٨ : سلفا نيلاميد

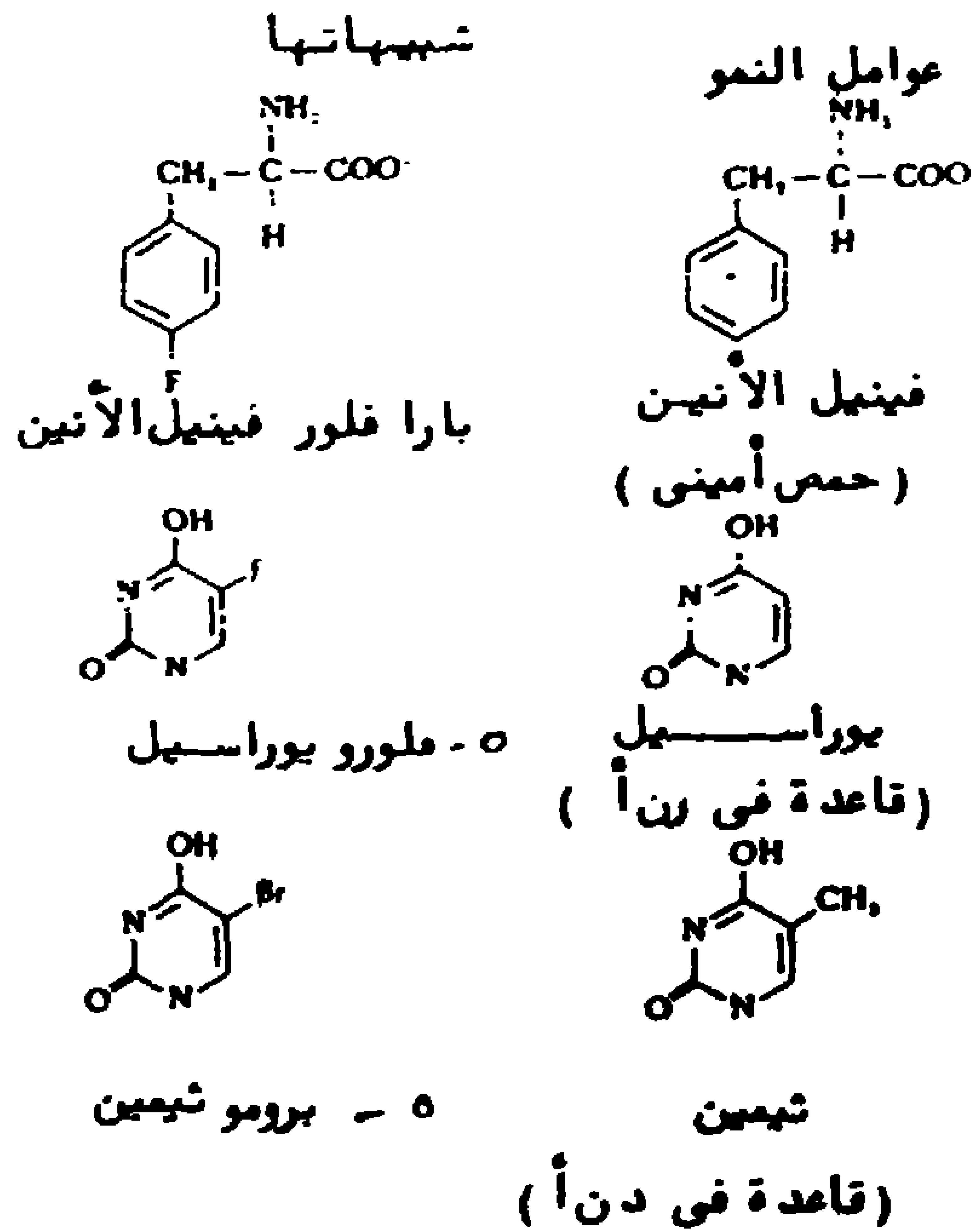


شكل ١٢ـ٩ : بارا أمينو بنزويك



شكل ١٢ـ١٠ : حمض الفوليك

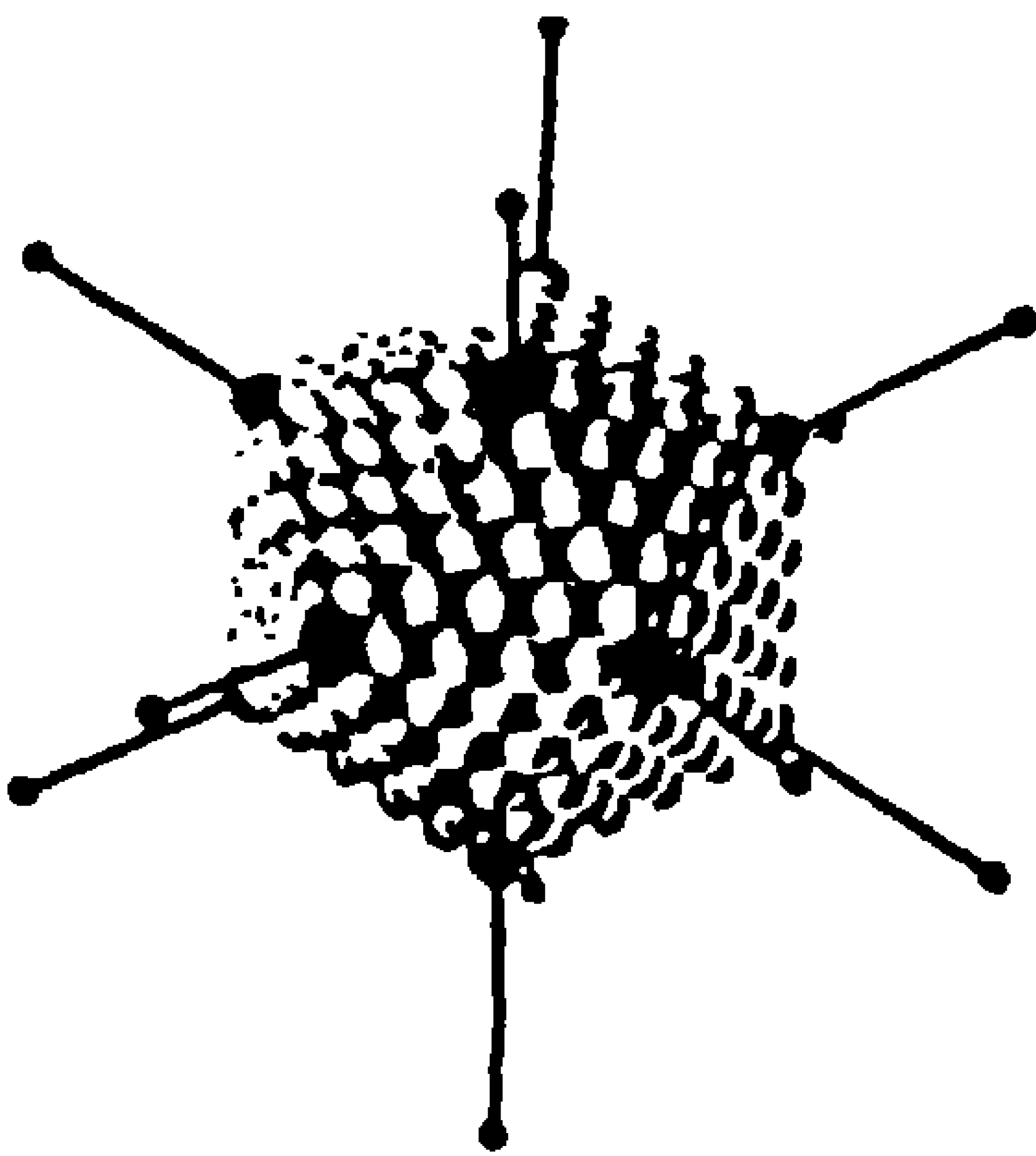
كما أن أبحاث المعالجة بالكيميائيات توصلت أيضا الى استعمال شبيهات عوامل النمو كمثبطات تنافسية Competitive inhibitors لايقاف المسارات الحيوية لبناء عوامل النمو فى الأحياء الدقيقة بما يؤدى الى توقفها عن النمو فى النهاية • وفى الوقت الحالى يوجد شبيهات لكثير من عوامل النمو مثل الفيتامينات والأحماض الأمينية وقواعد البيورين والبريميدين وغيرها من المركبات • ويوضح الشكل (١٢ـ١١) بعض عوامل النمو وشبيهاتها التى استخدمت لتثبيط النمو فى بعض الأحياء الدقيقة •

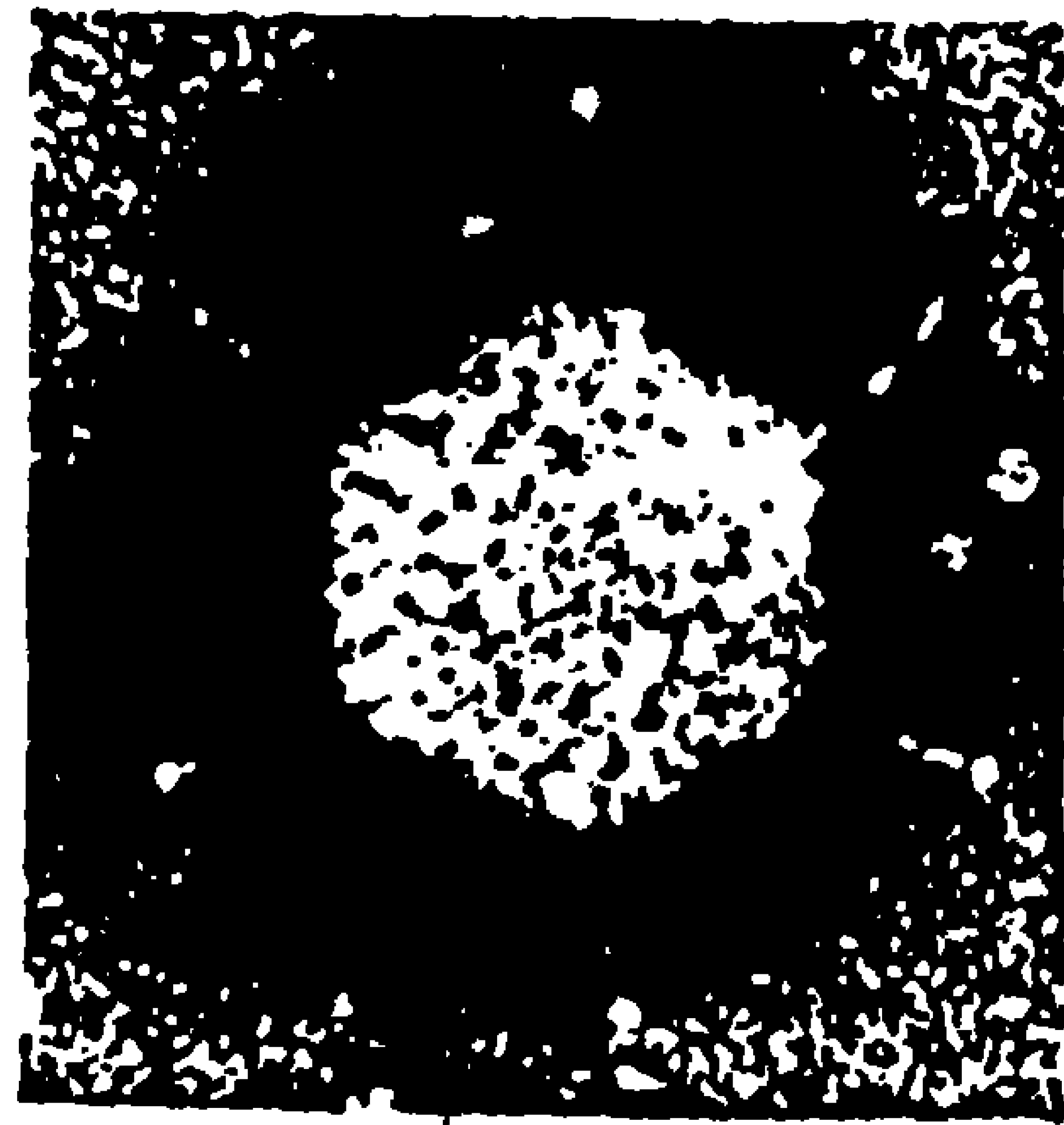


شكل ١٢ـ١١ : أمثلة لعوامل النمو وشبيهاتها

الباب الخامس

علم الفيروسات العام





الفصل الثالث عشر
مقدمة لعلم الفيروسات
Introduction to Virology

أولاً ، تعريف علم الفيروسات : Virology

هو العلم الذى يبحث فى ماهية الفيروسات وخصائصها الطبيعية والكيميائية والبيولوجية ، والأمراض التى تسببها للانسان والحيوان والنبات والأحياء الأخرى وكيفية مقاومتها أو الاستفادة منها ·

واشتقت كلمة فيرولوجى Virology (علم الفيروسات) من أصل لاتينى ، هو فيروس Virus وكانت هذه الكلمة تستخدم للدلالة على وصف مادة ما بالسمية ، وذلك لأنها مأخوذة من كلمة Venum وهو سم الثعبان ، ثم تطور استخدام كلمة فيروس Virus الى ما قبل اكتشاف المجاهر واكتشاف الأحياء الدقيقة ، فاستخدمت كلمة فيروس لوصف أى مادة تسبب امراضا بغض النظر عما اذا كان مسبب المرض فيروس أو بكتيريا أو غير ذلك من مسببات المرض ، فالأحياء الدقيقة لم تكن معروفة بعد كما نعرفها اليوم ·

بدأ التعرف على الأحياء الدقيقة كمسبب للأمراض فى حوالى عام ١٨٦٠م ، وتم اكتشاف مسببات الكثير من الأمراض ، لذلك اقتصر استعمال كلمة فيروس على مسببات الأمراض التى لم تعرف المادة المسببة لها مثل مرض القدم والفم Foot and mouth disease ـ وهو مرض يصيب الحيوانات ، ومرض تبرقش الدخان Tobacco Mosaic Virus ويرمز له عادة بالرمز (TMV) وهو تعاقب اللون الأخضر القاتم والفاتح على أوراق الدخان ، وفى عام ١٨٩٢ اكتشف ايفانووسكى Ivanowski أن مسبب مرض تبرقش الدخان يمر خلال المرشحات البكتيرية (والمعروف حينئذ أن المرشحات البكتيرية لا تسمح بمرور أصغر أنواع الأحياء الدقيقة ، وهى البكتيريا) دون أن تتأثر قدرته على احداث المرض ، وبعد ذلك بفترة زمنية بسيطة اكتشف لوفلر وفورش Loffler and Frosch أن مسبب مرض القدم والفم أيضا يمر خلال المرشحات البكتيرية ، وبعد ذلك تم

اكتشاف أن مسببات العديد من الأمراض النباتية والحيوانية تنفذ خلال المرشحات البكتيرية ٠

ونظرا لأن الترشيح كان هو الوسيلة الوحيدة لتمييز هذه الكائنات التى تنفذ من المرشحات البكتيرية عن غيرها من الكائنات والتى لا تنفذ من المرشحات ، فقد أضيفت كلمة (القابلة للترشيح) الى كلمة فيروس، فسميت بالفيروسات التى تمر خلال المرشحات البكتيرية Filterable Viruses ، وقد اختصرت بعض المراجع العربية هذه التسمية فأطلقت على الفيروسات اصطلاحا جديدا وهو (الرشيحات) ٠ ولكن بعد اكتشاف الفيروسات وطبيعتها وكذلك اكتشاف أنواع من المرشحات لا تسمح بمرور الفيروسات ، فان كلمة (الرشيحات) أو تعبير " التى تمر خلال المرشحات البكتيرية " Filterable قد أهملتا ، وأصبحت كلمة فيروس تستخدم لوصف مجموعة خاصة من الأحياء المتناهية الدقة بحيث أنها تمر من المرشحات البكتيرية ، وهى متطفلة اجبارية ، ووحدة تركيبها الفريون ٠

ثانيًا : أهم الصفات التى تميز الفيروسات عن الأحياء الأخرى

لقد حاول العديد من الباحثين والمؤلفين فى علم الفيروسات وضع تعاريف للفيروس غير أن سرعة تطور هذا العلم والتغاير الكبير فى خصائص الفيروسات المختلفة قد جعل تلك التعاريف غير كافية لكافة خصائص الفيروسات المختلفة ، كما جعل من الصعب تعريف الفيروس ببضعة أسطر ٠

وأهم الصفات التى تميز الفيروسات عن الأحياء الأخرى ما يلى :

(١) يحتوى الفيريون ـ وهو الطور الخارجى للفيروسات على نوع واحد من الحمض النووى اما د ن أ (DNA) أو رن أ (RNA) ،بينما تحتوى الكائنات الأخرى على كليهما ٠

(الفيريون هو جسيم فيروس كامل ، أى يحتوى على الحمض النووى والغطاء البروتينى وبقية المكونات الأخرى إن وجدت) ٠

(٢) يعتمد تضاعف الفيروسات على الحمض النووى فيها فقط ، بينما تعتمد الكائنات الحية الأخرى فى تكاثرها على مجموع مكوناتها بصورة متكاملة ومتضامنة ٠

(٣) ليس للفيروسات القدرة على النمو أو التكاثر بالانشطار ، ولكن تتضاعف بطريقة خاصة تعتمد على المادة الوراثية لها ، بينما تنمو الأحياء الخلوية وتتكاثر بالانشطار أو الانقسام ٠

(٤) لا تحتوى الفيروسات على المعلومات الوراثية اللازمة لتكوين الأنظمة الخلوية لانتاج الطاقة مثل نظام ليبمان Lipman System...... بينما تحتوى الأحياء الخلوية على أنظمة انتاج الطاقة ٠

(٥) تستخدم الفيروسات ريبوسومات خلايا العائل فى تضاعفها ، وتسمى هذه الحالة بالتطفل الاجبارى المطلق ٠

(٦) جسيم الفيروس عبارة عن نظام استاتيكى ثابت Static system بمعنى أنه ليس لديه القدرة على تغيير أو استبدال أجزائه طالما لم يغزو خلايا حية ... أما الخلايا الحية على اختلافها عبارة عن نظام ديناميكى مفتوح Open dynamic system والمقصود بنظام ديناميكى أنها فى حالة تغير مستمر نتيجة لتجديدها لمكوناتها فهى باستمرار تأخذ مواد من البيئة تستعملها فى بناء مكوناتها وتخرج النواتج الثانوية ٠ ومع أن الخلية فى حالة تغير مستمر ، فانها تظل دائما نفس الخلية لذلك ، فهى نظام مفتوح Open system .

(٧) الفيروسات تتكون نتيجة لتجميع جزئيات البروتين ونسخ من الحمض النووى الفيروسى ٠ وكلا من البروتين والحمض النووى يتكونان مستقلين عن بعضهما ٠ أما الخلايا فهى تتكون كنتيجة مباشرة لانقسام خلايا سابقة بعد زيادة منظمة فى جميع محتويات الخلية الأم ٠

(٨) تتميز الفيروسات عامة بصغر الحجم وعدم امكان رؤيتها الا باستخدام المجهر الاليكترونى ٠

(٩) لاتستجيب الفيروسات المرضية عموما للعلاج بالمضادات الحيوية ... بينما تستجيب الأحياء المرضية الأخرى (البكتيريا والفطريات) للعلاج بالمضادات الحيوية المختلفة .

ثالثاً ، نبذة تاريخية عن الفيروسات

الأمراض الفيروسية :

بالرغم من اكتشاف الفيروسات كمسببات مرضية فى أواخر القرن التاسع عشر ، الا أن هناك دلائل على وجود هذه المسببات المرضية على الأرض واصابتها للانسان والحيوان والنبات تمتد لعدة قرون قبل اكتشافها .

فقد سجل قدماء المصريون على آثارهم وجود الأعراض المميزة لمرض شلل الأطفال Poliomylitis والذى يسببه فيروس مرض شلل الأطفال المعروف Polio virus . والشكل (١٣ـ١) يوضح الأعراض المميزة للاصابة بمرض شلل الأطفال فى الساق اليمنى لأحد الكهنة .



شكل (١٣ـ١) : صورة لنحت من عهد الأسرة المصرية الثامنة عشرة والتى يمتد تاريخها الى ما قبل ١٥٠٠ سنة قبل الميلاد .

ويظهر فى الصورة أحد الكهنة ، وتبدو عليه الأعراض المميزة لمرض شلل الاطفال فى الساق اليمنى .

وقد سجل هذا الشكل في عهد الأسرة المصرية الثامنه عشـــره والتي يمتد تاريخها الى ما قبل ١٥٠٠ سنة قبل الميلاد . كما يعتقـد أن مرض الجدرى (وهو مرض فيروس أيضا) كان موجودا في الصين قبـل الميلاد بحوالي ٣٠٠ سنة. ويوجد دلائل على أن أمراض الحمى الصفراء Yellow fever والانفلونزا Influenza كانت منتشرة في العالم الغربي ، حتى قبل أن يتمكن كولومبس Columbus من الربط بيـن القارات. كما يعتبر داء الكلب Rabies من أقدم الأمراض الفيروسيـة التي تصيب الكلاب وجميع الحيوانات ذات الدم الحار .

أما بالنسبة للأمراض الفيروسية التي تصيب النباتات والحشـرات والبكتيريا ، فان اكتشافها يعتبر حديثا اذا ما قورن بتاريخ الأمـراض الفيروسية التي سبق ذكرها بالنسبة للانسان والحيوان ... غير أن هـذا لا يعني أن هذه الفيروسات لم تكن موجودة في الطبيعة قبل اكتشافها . ويعتبر أقدم هذه الأمراض الفيروسية سجلا هو مرض انكسار اللون فـي أزهار التيوليب Tulip colour breaking حيث ذكر المرض في عـام ١٥٧٦ م ... ورغم أن هذه الظاهرة هي أحد الموزايك، وأن سبـب هذا المرض كان مجهولا في ذلك الحين ، الا أن هواة الأزهار كانـوا يشترون الأزهار المصابة (التي حدث بها انكسار اللون) بأسعـار باهظة وخيالية .

ومن الأمراض الفيروسية الأخرى التي عرفت قديما تلك التي لوحظت في محصول البطاطس حوالي عام ١٧٦٥ م في أوروبا والتي كان من أهـم مظاهرها تدهور انتاجية البطاطس . ومن المعروف الآن أن نباتـات البطاطس حساسة للاصابة بمجموعة من الفيروسات تقدر بأكثر من ثلاثيـن فيروسا ، وأن الاستمرار في تكاثر البطاطس خضريا لعدة سنـوات دون اتخاذ اجراءات وقائية تؤدى الى تراكم هذه الفيروسات فيها وبالتالـي الى تدهورها Degeneration .. وانخفاض انتاجيتها .

وكان للملاحظة التي لاحظها الطبيب الانجليزى توورت Twort عام ١٩١٥ م أكبر الأثر في اكتشاف الفيروس الذى يصيب البكتيريا . فقـد

لاحظ أن مستعمرات البكتيريا النامية على الاجار يظهر بها أجـــزاء شفافة تدل على أن البكتيريا في هذه الأجزاء الشفافة قد تحللت أو تآكلت ... وقد قام بتمرير معلق من تلك المستعمرات البكتيرية خلال مرشـــح بكتيرى ، وأضاف الراشح الخالى من البكتيريا الى مزرعة بكتيرية جديـدة ، فوجد أن هذا الراشح له خاصية احداث الأجزاء الشفافة في تلـــك المزرعة مما يدل على أن المسبب له خاصية الفيروسات . وقد أطلــــق الباحث الكندى ديريل d' Herelle (الذى اكتشف نفس الظاهـــرة في نفس الوقت مستقلا عن زميله البريطانى) على مسببات حدوث الأجـزاء الشفافة اسم آكلة البكتيريا Bacteriophage . وعادة ما تختصـــر هذه التسمية الى كلمة الفاج Phage للتعبير عن الفيروسات التـــى تصيب البكتيريا . وكان للدراسات والبحوث التى قامت لدراسة علاقـــة الفيروس بخلية البكتيريا أكبر الأثر في اعتبار علم الفيروسات من العلـــوم الأساسية القائمة بذاتها في الوقت الحاضر .

طبيعة الفيروسات:

حدث كثير من الجدل — في الماضي — لفترات زمنية طويلة حـــول طبيعة الفيروسات، فقد اعتقد البعض انها سموم سائلة ، بينما اعتقـــد البعض الآخر أنها عبارة عن انزيمات أو أحياء دقيقة خلوية ، ولكـــن طبيعة الفيروس الحقيقية لم تعرف في ذلك الوقت لعدم تمكن العلمـــاء من تنقية وعزل الفيروسات . ولقد افترض معظم العلماء الذين قامـــوا بدراسة الفيروسات في نهاية القرن الماضى أن الفيروسات عبارة عن قسـم آخر من الأحياء الدقيقة الخلوية لا يختلف عن سائر الأحياء فـــى أى اختلافات جوهرية سوى في الحجم فقط، وفي ذلك الوقت كانت الأحيـــاء تميز بصفات أربع أساسية هى النمو والتكاثر والتغذية والتنفس.

وقد ثبت أن جميع الفيروسات كانت دائما متطفلة اجباريـــــــا Obligate parasites لا تتكاثر (تتضاعف) الا داخل خلايا حية ، ولكن نظرا لأن عددا من الأحياء الأخرى ايضا متطفلة اجباريا ، فانـــه

لم يمكن الفصل بين الفيروسات وغيرها من الكائنات الدقيقة على أساس صفة التطفل الاجبارى ، حتى أثبت بايرنك M.W.Beigjerinck فى نهاية القرن الماضى أن فيروس تبرقش الدخان يمكن ترسيبه بالكحول دون أن يفقد حيويته وقدرته على احداث الاصابة ٠ كما أثبت هذا العالم أن هذا الفيروس ذو قدرة على الانتشار Diffusing خلال الآجار، وهاتين الصفتين لم يعرفا فى أى أحياء دقيقة أخرى من قبل ٠ لذلك فقد اقترح بيرنك أن تكون هذه الفيروسات كائنات غير حية ، وأسماها أساس السوائل المعدية Fluid infectious principles.ولقد مضت أربعون عاما تقريبا من قبل أن يستطيع أحد تأكيد هذه الطبيعة للفيروسات ، حتى استطاع العالم الأمريكى ستانلى M.W.Stanley فى عام ١٩٣٥ من عزل وتنقية فيروس تبرقش الدخان TMV بشكل بللورات بروتينية نقية من عصير نباتات الدخان المصابة ، وذلك بترسيبها بكبريتات الأمونيوم ٠ وتميزت هذه البللورات بقدرتها على العدوى والتكاثر داخل الخلايا الحية ، ومن ثم احداث المرض ٠ وفى عام ١٩٣٦ اكتشف بودن وبيرى Bawden & Pirie فى انجلترا أن بللورات الفيروس التى عزلها ستانلى لم تكن بروتينا فقط فحسب ... بل كانت تحوى أيضا على حامض نووى ريبوزى (رنأ) RNA ، ولم يكن معروفا حينئذ الدور الحيوى الهام الذى تلعبه الأحماض النووية فى الكائنات الحية ... وكان نجاح برنت F.M. Burnet عام ١٩٣٥ فى اكثار فيروس الانفلونزا على أغشية الأجنة النامية فى بيض الدجاج هى الخطوة الأولى فى اكثار الفيروسات التى تصيب الانسان والحيوان فى الأجنة ، وكذلك فى أنسجة الحيوان المختلفة مما أدى الى امكان تجهيز لقاحات ضد الأمراض المختلفة ٠ ولو أن الفضل فى اكتشاف اللقاحات Vaccines يرجع الى باستير Pasteur (١٨٢٢ - ١٨٩٥م) الذى نجح فى اعداد لقاح داء الكلب Rabies رغم عدم تمكنه من عزل وتنمية الفيروس المسبب فى المعمل وعدم تمكنه من رؤيته بالمجهر المتوفر آنذاك ٠

وفى عام ١٩٠٩ م اكتشف العالم الأمريكى ريكتس Riketts مسببا آخر لبعض الأمراض المعدية مثل مرض التيفوس وحمى كيو (Q) ، وقد

وجد أن هذا المسبب يحتل مكانا وسطا بين البكتيريا والفيروس ، ولو انه لم يوجد سبب يدل على أنه يمثل حلقة تطور بين المجموعتين . وقد سميت مسببات هذه الأمراض بأسماء مكتشفها ريكتسيا Rikettsia وهي أحياء صغيرة جدا متطفلة اجباريا مثلها في ذلك مثل الفيروسات.

ثم اكتشف بعد ذلك مجموعتان أخرتان من الأحياء الصغيرة جدا المتطفلة اجباريا أيضا وهي الكلاميديا Chlamydia والميكوبلازما Mycoplasma ، وهي تسبب أمراضا للانسان والحيوان أيضا . ونظرا للتشابه الشديد بين كلا من الركتسيا والكلاميديا والميكوبلازما من جهة وبين الفيروسات من جهة أخرى في صفة التطفل الاجبارى وصغر الحجم لصعوبة رؤيتها بالمجاهر الضوئية المتاحة حينئذ ، فقد وضعت الفيروسات Order Virales كاحدى مجموعات البكتيريا Bacteria في قسم الفطريات Schizomycetes من المملكة النباتية . وذلك رغما عن الاختلافات الواضحة بين الفيروسات وسائر الأحياء الخلوية ، وأهم هذه الاختلافات ان الفيروسات لا تتركب من خلايا مثل سائر الأحياء ، ولكن وحدة التركيب الكاملة للفيروسات تسمى فيريون Virion ... أما الكلاميديا والركتسيا والميكوبلازما فقد ثبت فيما بعد أنها مجموعات بكتيريا حقيقية . (الجدول ١٣ـ١) يبين الفروق بين هذه الأحياء المختلفة ، وكان اكتشاف المجهر الالكترونى Electron microcope لأول مرة عام ١٩٣٩ اعاملا هاما في معرفة اشكال وأبعاد بعض الفيروسات.

ولكن لم يعرف في ذلك الوقت أيا من مكونات الفيروسات يسبب العدوى ، الى أن اقترح ابستين Epstein عام ١٩٥٣ أن الحمض النووى لفيروس تبرقش الدخان TMV هو الأساس في العدوى ، وليس الجزء البروتينى المحيط به ... وقد تأكد ذلك بتجارب جيرار وشيرام Girer & Schramm في انجلترا عام ١٩٥٦م وبتجارب فرانكل وكونرات Fraenkel-Conrat في امريكا في نفس العام ، فقد استخدم الفينول ومركبات أخرى في فصل الغطاء البروتينى المحيط بالحمض النووى في جسيم الفيروس عن بعضهما ... فوجد أن الحمض النووى (رن أ) RNA هو الجزء القادر على احداث العدوى.

جدول ١٣ـ١ : الفروق بين الفيروسات والأحياء الدقيقة الخلوية :

الكائن الدقيق Micro-organism	الحجم بالنانوميتر Size nm	التركيب الكيميائي Chemical composition	التضاعف Multiplication	التثبيط بالمضادات الحيوية كالبنسلين والتتراسيكلين والسلفوناميدات	خواص الصبغ Staining	الأحماض النووية
١) البكتيريا	٥٠٠ – ٣٠٠٠	معقد (يشمل العديد من البروتينات والكربوهيدرات والدهون والأحماض النووية دنأ ،رن أ، يحتوي الجدار الخلوي على ببتيدوجليكان	بالانقسام الثنائي البسيط Bianary fission_ يتم في السوائل أو المستنبتات السائلة أو الصلبة أو داخل الخلايا العائل .	حساسة للمضادات الحيوية	تصبغ بصبغات مختلفة	د ن أ + ر ن أ
لميكوبلازما	١٥٠ – ١٠٠٠	وهي بكتيريا تشبه ما سبق فيما عدا الجدار الخلوي للميكوبلازما ليس لها جدار خلوي .	تشبه ما سبق فيما عدا الانقسام فهو بالتبرعم Budding	حساسة للتراسكلين ولكنها غير حساسة للبنسلين والسلفوناميدات .	ضعيفة الاستجابة للصبغ .	د ن أ + ر ن أ
٣) الركتسيا	٢٥٠ – ٤٠٠	هي بكتيريا تشبه ما ذكر في البكتيريا .	تتكاثر داخل خلايا حية فقط ، وتنقسم بالانقسام الثنائي البسيط .	حساسة للمضادات الحيوية	تصبغ بصبغات مختلفة	د ن أ + ر ن أ
٤) الكلاميديا (البدسونيا)	٢٥٠ – ٤٠٠	هي بكتيريا تشبه ما ذكر في البكتريا .	تشبه ما في الركتسيا	حساسة للمضادات الحيوية	تصبغ بالصبغات المختلفة	د ن أ + ر ن أ
٥) الفيروسات	١٥ – ٢٥٠	تحتوي على حمض نووي واحد فقط اما دنأ أو رنأ ، مغطى بغطاء بروتيني وأحيانا يوجد غلاف خارجي يحتوي على الدهون أو الكربوهيدرات	تتضاعف داخل خلايا حية فقط . لا تنقسم ولكن يتم تكوين المكونات منفصلة ثم يتم تجميع المكونات لتكوين جسيمات فيروسات كاملة .	لا تستجيب للمضادات الحيوية	يمكن صبغها أحد بأملاح المعادن الثقيلة للفحص فقط بالمجهر الالكتروني	اما دنأ أو ر نأ

علاقة الفيروسات بالأحياء الأخرى :

تميزت الأحياء عن غيرها في الماضي بأربع صفات أساسية ... هي النمو - التكاثر - التغذية - والتنفس ... وقسمت الأحياء كلها الى مملكتين أساسيتين هما المملكة النباتية Kingdom Plantea والمملكة الحيوانية Kingdom Animalia وفقا لصفات معينة .

ولم تظهر مشاكل تذكر في تقسيم الأحياء المعروفة في ذلك الوقت ، الى أن اكتشفت المجاهر التي أدت الى رؤية الأحياء الدقيقة ، وظهرت الى الوجود نظرية الخلية Cell theory فأضيفت صفة التركيب الخلوى الى الصفات المميزة للكائنات الحية ، وبذلك فان البكتيريا والفطريات وهى كائنات خلوية وضعت ضمن المملكة النباتية .. أما البروتوزوا فوضعت في المملكة الحيوانية اعتمادا على وجود الجدار الخلوى أو غيابه ، وعندما اكتشفت الفيروسات في بداية هذا القرن ، وهى كائنات غير خلوية يمكن ترسيبها بالكحول أو كبريتات الأمونيوم ويمكن بلورتها دون أن تفقد قدرتها على احداث العدوى ، كما أنها تنتشر خلال الآجار ... وهذه الصفات لم تعرف في أى من الأحياء الخلوية المعروفة في ذلك الوقت ، كما أن الفيروسات قادرة على مضاعفة نفسها داخل خلايا حية ، وهى قادرة على احداث أمراض مختلفة في الانسان والحيوان والنبات وغيرها من الأحياء ... لذلك اختلفت الآراء فيما اذا كانت الفيروسات كائنات حية أم لا ؟ ..

وتتوقف الاجابة على هذا السؤال على الاجابة على سؤال أهم .. وهو ما الحياة نفسها ؟ .. فالحياة يمكن النظر اليها على أنها مجموعة من العمليات المعقدة تحكمها وتنظمها المعلومات الشفرية الموجودة على الحمض النووى الخاص بالكائن الحى طول الوقت .. وعندما يتوقف الحمض النووى عن تنظيم هذه العمليات المعقدة تتوقف الحياة . ففى الخلايا الحية يقوم الحمض النووى د ى أوكس ريبو نيكليك د ن أ DNA بتنظيم العمليات الحيوية طول الوقت . أما في الفيروسات فان الحمض النووى الفيروسى ينظم العمليات الحيوية فقط عندما يدخل هذا

الحمض النووى الى خلية حية ، فيوجه الخلية لبناء الحمض النووى الفيروسى والبروتينى الفيروسى بدلا من بناء مكونات الخلية نفسها . لذلك تكون الفيروسات حية أثناء التضاعف داخل الخلايا .. كما أنه يمكن النظر للفيروسات على أنها كائنات حية أيضا كمادة مسببة للأمراض لا تختلف بذلك عن أى كائنات خلوية متطفلة اجباريا . وعلى النقيض من ذلك يمكن النظر للفيروسات على أنها جسيمات خاملة حيويا عندما تكون خارج الخلايا ، فحيوية مثل تلك الفيريونات لا تزيد عن حيوية قطعة أى مركب كيميائى نقى ... والنقاش حول ما اذا كانت الفيروسات حية أم لا ... يمتد منذ تمكن ستانلى Stanley فى عام ١٩٣٥م من بلورة فيروس تبرقش الدخان TMV اذ لم يتقبل كثير من العلماء فكرة امكان بلورة أى مادة حية .

وعلى أى حال ... تختلف نظرة كثير من العلماء الى الفيروسات . فعلماء الوراثة قد ينظرون للفيروسات على أنها كائنات حية نظرا لأنها عناصر وراثية تستطيع — عند غزوها لخلايا حية — انتاج بروتينات فيروسية وأحماض نووية خاصة بها . وهذين المركبين هما الأساس للكائنات الحية . أما علماء الفسيولوجيا — وهم يعلقون أهمية اكثر على القدرة الذاتية على انتاج الطاقة وبناء المكونات المختلفة للكائنات الحية — فقد ينظرون للفيروسات على أنها مواد غير حية على اعتبار انها لا تقدر على انتاج الطاقة ولا بناء مكوناتها بنفسها .

ولذلك فوجهتى النظر صحيحتان ولكن كلاهما غير كاف بمفرده نظرا لأن الفيروسات تتبادل مرحلتين من مراحل الحياه . فالفيريونات (الطور الخارجى) غير قادرة على التكاثر (التضاعف) أو النمو بنفسها ، وان كانت قادرة على غزو الخلايا حيث يبدأ (الطور الداخلى) فى مضاعفة مكوناته ثم تركيب فيريونات جديدة تنطلق لتصيب خلايا جديدة . ويمكن فقط الاجابة على السؤال : ما اذا كانت الفيروسات كائنات حية أم لا ... ؟ اجابة كاملة عندما تأخذ فى الاعتبار كلا المرحلتين الخارجية والداخلية للفيروسات .

وحديثا عدلت الصفات العامة للأحياء لكي تشمل الفيروسات،واتفق حاليا على أن الأحياء تتميز بثلاث صفات اساسية وهى :

١- كل الكائنات الحية وحدتها الخلية أو الفيريون .
٢- كل الكائنات الحية تقوم بنشاطات خاصة تسمى التمثيل الغذائى Metabolism.
٣- كل الكائنات الحية تحتوى على أحماض نووية وبروتينات.

ووفقا للصفات الثلاث المذكورة ، يمكن النظر الى الفيروسات على أنها أحياء ، رغم خمول طورها الخارجى (الفيريونات) والموجود خارج العائل .

ونظرا لاختلاف الفيروسات عن سائر الكائنات الحية فى عدم وجود التركيب الخلوى ، فان الفيروسات تقسم الآن فى تقسيم منفصل عن البكتيريا وغيرها من الأحياء الخلوية بعد أن كانت توضع فى قسم واحد (مع البكتيريا) ضمن أقسام الفطريات فى المملكة النباتية .

رابعًا : أصل ونشأة الفيروسات

بالنسبة لأصل Origin ونشأة الفيروسات وكيفية تطورها فغير معروف على وجه التأكيد . بعض العلماء يفضل النظر اليها على أنها نشأت مستقلة ، ثم تكونت منها الكائنات الخلوية ذات النواة البدائية ، وهكذا حتى وصلنا الى الكائنات الراقية . بينما يفضل بعض العلماء النظر الى الفيروسات على أنها نشأت عن الخلايا بحيث فقدت وظائف هامة ، ولا يمكنها أن تعيش أو تقوم بالوظائف الحيوية المختلفة بمفردها دون غزوها لأنظمة حية تكمل بها النقص فى وظائفها الحيوية . والتصور الثانى أسهل لو تخيلنا بعض الفيروسات ذات القدرة على الاتصال بكروموسوم الخلية كما فى الفيروسات المعتدلة Temperate viruses والتى يحتمل أن تكون نشأت أساسا من خلايا تعرضت لتغيرات وراثية

نتج عنها انفصال هذه الفيروسات، ثم نشأت الفيروسات المحللة Lytic viruses.

ولكن هذه النظرية الثانية يصعب بها تفسير نشأة الفيروسات ذات الحمض النووى ريبو نيكليك رنأ RNA Viruses حيث أن الحمض النووى رنأ RNA لا ينسخ Replication بنفسه أبدا فى الخلايا الحية.

خامسًا، العوامل الفيروسية ومدى تخصص العائل

تصيب الفيروسات العديد من الأحياء، فهى تهاجم النباتات الزهرية واللازهرية بما فى ذلك الفطريات والطحالب كما تهاجم الانسان والحيوانات المختلفة الفقارية (كالماشية و الطيور والأغنام والحيوانات المفترسة وغيرها). كما تصيب الفيروسات البكتيريا. وتسمى الفيروسات التى تصيب البكتيريا باسم آكلات (لاقمات) البكتيريا Bacteriophages وعادة ما يختصر هذا الاسم الى المقطع الأخير منه، وهو كلمة فاج فقط، والفاج ينقسم الى نوعين : الفاجات الضارية Virulent Phages والفاجات المعتدلة Temprate Phages.

والفاجات الضارية هى التى تسبب انفجار الخلايا مباشرة بعد حدوث العدوى... أما الفاجات المعتدلة فهى فاجات قد تسبب انفجار الخلايا بعد حدوث العدوى، وقد لا تسبب الانفجار، ولكن تكسب الخلايا القدرة الكامنة على التحلل Lysogenic. وفى الحقيقة فان جميع أنواع البكتيريا التى اختبرت حتى الآن وجد أنها تحتوى على فاجات معتدلة • علاوة على حساسية كثير من البكتيريا للفاجات الضارية.

وعندما يكون الكائن الحى قابلا للاصابة بالفيروسات، فانه قد يصاب بعدد من أنواع الفيروسات. ولا يمكن عمل تعميم عن مدى العوائل Host range التى تصاب بفيروس ما.

فالفيروسات البكتيرية مثلا متخصصة لدرجة كبيرة جدا . بحيث أن اصابة نوعين مختلفين من البكتيريا بنوع واحد من الفيروسات يعطى انطباعا على أن هذين النوعين من البكتيريا وثيقتا العلاقة ببعضهما ، أما الفيروسات النباتية فدرجة التخصص فيها محدودة ، فالنوع الواحد من الفيروسات النباتية يتميز بقدرته على اصابة عدد كبير من العوائل، ويختلف الوضع عن ذلك فى الفيروسات الحيوانية ، فبعض الفيروسات الحيوانية شديدة التخصص مثل بعض أنواع فيروسات الميكسوما (المخاطية) Myxoma virus بينما تستطيع بعض الفيروسات الحيوانية اصابة حيوانات عديدة مثل فيروس داء الكلب Rabies . والملاحظ أن معظم الفيروسات الحيوانية يمكن زراعتها على أنسجة جنين الدجاج رغم أن العديد من هذه الفيروسات لا يصيب الدجاج نفسه .

سادسًا : أهمية دراسة علم الفيروسات .

الخسائر فى الأرواح البشرية والخسائر الناتجة عن نفوق الحيوانات:

سببت الفيروسات التى تصيب الانسان هلاك اعداد كبيرة من بنو البشر على مر السنين مثل مرض الجدرى ويسببه Pox virus الانفلونزا ويسببها Ortho Myxovirus والحمى الصفراء ويسببها Arbovirus والحصبة والغدد النكفية ويسببها فيروسات شبه مخاطية Paramyxovirus وغيرها من الأمراض.

ورغم أن الكثير من الأمراض الفيروسية قد اكتشفت مسبباتها ، فمازالت بعض أمراض السرطان Cancer وغيرها لم تكتشف مسبباتها رغم توفر الأدلة على أن هذه المسببات عبارة عن فيروسات. وكثير من الأمراض الفيروسية التى اكتشفت مسبباتها والتى لم تكتشف مسبباتها تسبب ازعاجا كبيرا للبشرية . ولا تنحصر الخسائر فى الأرواح البشرية التى تقضى عليها الفيروسات ومصاريف العلاج التى تنفقها الدول واهدار الطاقات البشرية المستغلة فى الصناعة والزراعة وغيرها .. بل كثيرا ما تسبب

الاصابات الفيروسية عاهات دائمة لدى المريض ... مثل مرض شلـــــل الأطفال .

وتؤدى الفيروسات الى نفوق اعداد كبيرة من الحيوانات الأليفـــة والأسماك والدواجن والحشرات النافعة كالنحل ودودة الحرير وغيرها ، مؤدية الى خسائر اقتصادية فادحة ، ومن أمثلة ذلك مرض النيوكاســـل (الشوطة) والذى تسببه بعض فيروسات Paramyxovi-rus ومرض القـــدم والفم ويسببه فيروس Picorna والطاعون البقرى Rinder pest وغيرها ... هذا علاوة على أن بعض أمراض الحيوان تنتقل الى الانسان مثـــل امراض الانفلونزا Influenza والكلب Rabies والنيوكاســـل New Castle وجدرى القرود Monkey Pox .

ولا تنحصر خسائر أمراض الحيوان الفيروسية فى الخسائر الاقتصاديـــة فقط بل يتعداها الى اهدار كميات كبيرة من البروتين الحيوانى فـــى الوقت الذى يعانى فيه بنو البشر من نقص خطير فى هذا الغـــذاء الأساسى .

الخسائر فى المحاصيل الزراعية :

تصيب الفيروسات العديد من النباتات وتسبب خسائر اقتصاديـــة فادحة فى كثير من المحاصيل الزراعية الهامة . ومن أمثلة ذلك ما حدث فى امريكا الجنوبية خلال الفترة (١٩٣٦ـ١٩٤٨م) حيث أصيبت أشجـــار البرتقال المطعمة على أصول نارنج بمرض التدهور السريع Quick decline أو مرض الترستيزا Tristeza مما اضطر المزارعون الى اقتلاع وازالـــة أكثر من ستة ملايين شجرة خلال تلك الفترة . ومن ولاية ساوبا ولـــو بالبرازيل وحدها اقتلع المزارعون أكثر من ٧٥٪ من اشجار البرتقـــال بها بسبب هذا المرض. هذا وتصيب الفيروسات الكثير من محاصيل الخضر والفاكهة والبقوليات والحبوب والمحاصيل الصناعية مثل البنجر السكـــرى وعباد الشمس وفول الصويا والقطن وغيرها بأمراض مختلفة مثل أمـــراض

التبرقش Mosaic or Mottling والتخطيط Streak والاصفرار Yellows والبقع الحلقية Ringspots والتشوهات Distrotions وموت الخلايا (التنخر) Necrosis وغيرها ... وتؤدى معظم هذه الأمراض الى تدهور الانتاج النباتي مسببة خسائر مادية نتيجة نقص المحاصيل من حيث الكم والنوع ، ونتيجة تعطل بعض الصناعات القائمة على تلك المنتجات الزراعية ، علاوة على أن نقص محاصيل الغذاء فى وقت يزداد فيه خطر المجاعة بالنسبة للزيادة المستمرة فى تعداد السكان يشكل بعدا هاما لمشاكل الأمن الغذائى فى العالم .

الخسائر فى مصانع الأغذية الناتجة عن التخمرات :

تهاجم الفيروسات البكتيرية (الفاجات) مزارع البكتيريا المستخدمة فى انتاج بعض الأغذية مثل الألبان المختمرة والجبن ، مسببة خسائر كبيرة لهذه الصناعات ، والمعروف ان كل سلالات البكتيريا التى فحصت تحتوى على نسخ كامنة من المادة الوراثية لفيروسات بكتيرية معتدلة . ومثل تلك المواد الوراثية الكامنة كثيرا ما تتحول الى الحالة الضارية Virulent مسببة انحلال لخلايا المزرعة البكتيرية .

انتاج اللقاحات Vaccines والانترفيرون Interferon

اللقاحات الفيروسية عبارة عن فيريونات كاملة لمرض ما تم اضعافها أو تثبيطها كلها تثبيطا كاملا بالمواد الكيميائية كالفورمالدهيد ، بحيث لا يستطيع أى جسيم منها احداث المرض ... بينما لا تفقد قدرتها على تنشيط الخلايا المسئولة عن المناعة ... وبذلك يتكون لدى الجسم مناعة فعالة عند اصابته بفيروسات نفس المرض .

أما الانترفيرون ، فهو عبارة عن مواد مضادة للفيروسات تنتجها عدد من الخلايا الحيوانية بعد حقنها ببعض الفيروسات . والانترفيرون

عبارة عن بروتينات ذات وزن جزيء منخفض تثبط تضاعف الفيروسات في الخلايا ... وقد تم اكتشافها عند دراسة تأثير التداخل Interference الناتج عن مهاجمة فيروس لخلية مصابة أصلا بفيروس قبل ذلك ... ولذلك سميت المادة المضادة للفيروس الناتجة باسم انترفيرون Interferon وقد وجد أن الانترفيرون لا يتكون كرد فعل لغزو الخلايا بفيروسات نشطة فقطه بل يتكون الانترفيرون أيضا عند غزو الخلايا بفيروسات تم تثبيطها بالأشعة أو عند غزو الخلايا بحمض نووى فيروسى . كما ثبت أنه يمكن انتاج كميات كبيرة من الانترفيرون باستعمال فيروسات تحدث اعراض خفيفة للاصابة المرضية Low virulence... بينما يؤدى استعمال سلالات تحدث أعراض شديدة للاصابة المرضية high virulence الى انتاج كميات صغيرة من الانترفيرون . وربما يرجع ذلك الى أن الفيروسات التى تحدث أعراض شديدة للاصابة المرضية توقف بناء البروتين الخلوى قبل أن يتم تكوين كمية مناسبة من الانترفيرون .

كما يتكون الانترفيرون بواسطة عدد من جزيئات الحمض النووى ريبونيوكليك رنأ المزدوج السلسلة Double-stranded RNA. وحيث أن الخلايا الطبيعية لا تحتوى على هذا الحمض النووى ، وأن هذا الحمض النووى لا يوجد الا فى الخلايا الحيوانية كمرحلة وسيطة لانتاج فيروسات رنأ RNA فى الخلية التى تم غزوها بهذا النوع من الفيروسات ، لذلك فقد اعتقد أن الحمض النووى رنأ المزدوج السلسلة هو الاشارات signals التى توجه الخلية لانتاج الانترفيرون .

وقد لوحظ أن الانترفيرون ليست مخصصة للفيروس، ولكنها متخصصة للعائل مثلا الانترفيرون الذى ينتجه حيوان معين ، وليكن الدجاج كرد فعل على حقنه بفيروس الانفلونزا سيكون مضادا للفيروسات الأخرى التى تغزو الدجاج ، ولكن معدوم التأثير أو ذو تأثير بسيط فى تثبيط فيروس الانفلونزا فى حيوانات أخرى غير الدجاج .

وليس للانترفيرون تأثير على الخلايا غير المصابة بأى فيروس، حيث تقوم الخلايا بجميع وظائفها الحيوية على أكمل وجه دون تأثير على بناء الأحماض النووية الخاصة بالخلية . وفيما يبدو أن هذه الانترفيرون

تتداخل فى ارتباط الحمض النووى رن أ RNA الخاص بالفيروس مع الريبوسومات ، وبالتالى توقف بناء بروتينات الفيروس ، ولا تؤثر الانترفيرون على ارتباط الحمض النووى رن أ RNA الخاص بالخلية مع الريبوسومات وبالتالى لا تمنع بناء البروتين الخلوى . وقد يتبادر للأذهان أن الانترفيرون تعتبر مادة مضادة للفيروسات مثالية ، ولكن ذلك ليس صحيحا للأسباب التالية :

(١) الانترفيرون صعبة التنقية جدا ... لذلك فان الحصول على كميات كبيرة منها لن تتوفر بسهولة .

(٢) ان فعل الانترفيرون وقائى Preventive فقط وليس علاجى Therapeutic فليس لها تأثير لوقف فيروس فى خلية أصيبت فعلا وبدأ الفيروس فيها فى التضاعف . وربما يرجع ذلك الى أن معظم الفيروسات تثبط بناء البروتين الخلوى قبل بداية بناء المكونات الفيروسية ، وبذلك لا يمكن للانترفيرون (وهو بروتين خلوى) ان يتكون .

(٣) الانترفيرون فعال لفترة زمنية قصيرة نسبيا ، ولذلك يلزم تعاطيه بصفة مستمرة .

انتاج بعض النباتات ذات القيمة الاقتصادية :

تؤدى الفيروسات الى ظاهرة انكسار اللون فى بعض الأزهار مثل التيوليب Tulip ولو أن هذه الظاهرة هى فى الحقيقة مرضا فيروسيا ، الا أن هواة الأزهار يشترون الأزهار بأثمان باهظة بما يزيد القيمة الاقتصادية لهذه الأزهار .

تفهم أسس الوراثة والبيولوجيا الجزئية والهندسة الوراثية :

ان التجارب التى أدت الى فهم الأساس الكيميائى للتطفر Mutation على المستوى الجزيئى قد أجريت كلها اما على الفيروسات البكتيرية

(الفاج) أو بكتيريا القولون المعروفة باسم E. coli • كما امكن تعريف الجين على المستوى الجزيئى ، فنمت علوم الكيمياء الحيوية Biochemistry والوراثة Genetics والبيولوجيا الجزيئية Molecular biology ثم استطاع بنزر Benzer بعد ذلك وضع خريطة لجين (rII) فى فاج تى ٤ (T 4) وبدأ علم الهندسة الوراثية Genetic Engineering والذى نما حديثا نموا كبيرا لدرجة أنه يمكن زرع جينات خاصة فى أحياء معينة للاستفادة منها اقتصاديا •

امكانية الاستفادة من الفيروسات فى مقاومة الآفات النباتية (الحشرية والفطرية والبكتيرية) :

يمكن الاستفادة من بعض الفيروسات فى المقاومة الحيوية Biological Control لبعض الآفات النباتية الفطرية منها والحشرية ، ومازالت البحوث فى هذا المجال محدودة • الا أن النجاح فى التوصل لبعض الفيروسات ذات القدرة على ابادة بعض الحشرات والفطريات والبكتيريا الهامة سيوفر قدرا كبيرا من الأموال التى تستثمر فى انتاج الكيميائيات المختلفة المستخدمة كمبيدات ، وليس هذا فحسب ، بل ان التوقف عن استعمال هذه الكيميائيات فى الابادة سيقلل من الخسائر التى تحدث نتيجة تسمم الانسان والحيوان والأسماك بها ، كما سيكون ذلك تأثيرا هاما على البيئة التى نعيش فيها •

سابعًا : الصفات العامة للفيروسات

وأصبحت كلمة فيروسات كما نعرفها اليوم عبارة عن عناصر وراثية موجودة فى أحد طورين أساسيين وهما :

(١) . الطور الداخلي : Intracellular phase

وهو عبارة عن تلك العناصر الوراثية د ن أ أو رن أ فى صورة

متضاعفة أو ساكنة وفقا لحالة كلا من الخلية العائل Host Cell والفيروس والظروف البيئية ٠

(٢) **الطور الخارجي :** Extracellular phase

ووحدته تسمى فيريون Virion ٠ والفيريون عبارة عن تركيب خاص يحتوى بداخله على حمض نووى دنا DNA أو رنا RNA ولا يحتوى أى فيريون على كلاهما معا ـ ويسمى الحمض النووى أيا كان رنا أو دنا " لب " Core ٠ ويغطى الحمض النووى بغطاء بروتينى Protein coat يسمى المحفظة Capsid مكون من وحدات بروتينية تسمى الكابسومرات Capsomors .

والفيريون خامل حيويا ، أى لا يستطيع التكاثر (التضاعف) أو التنفس أو التغذية أو غيرها من الوظائف الحيوية الهامة التى تقوم بها الخلايا الحية ، ولكن الفريون قادر على العدوى Infectious ، وهذا الفريون ذو حجم صغير جدا بحيث لا يمكن رؤيته حتى بالمجهر الضوئى العادى ، ويلزم لرؤيته استعمال المجهر الالكترونى ٠ وينحصر دور الفريون (الطور الخارجى) فى حمل الحمض النووى (المادة الوراثية) الفيروسى من الخلية التى انتج فيها لخلية أخرى ليبدأ مرحلة أخرى داخل خلية جديدة من خلايا العائل حيث تنتج نسخ جديدة عديدة من جسيمات الفيروس بواسطة أنظمة الخلية العائل Host cell .

يمكن النظر الى الفيروسات من زاويتين مختلفتين ٠ فيمكن النظر اليها على أنها مادة مرضية (تسبب الأمراض) كما يمكن النظر اليها على أنها مادة وراثية (تنقل صفات وراثية معينة) ٠ فالفيروسات كمسبب للأمراض يمكنها غزو الخلايا الحية للانسان والحيوان والنبات والبكتيريا ، واربا ك نشاطها واحداث تغييرات ضارة فى هذه الخلايا ٠

كما أن الفيروسات يمكنها نقل صفات وراثية دائمة تتناقلها للأجيال ٠ وهذه الصفات الوراثية ليست دائما ضارة ، وقد تكون أحيانا

نافعة ، ولا تقدر كل الفيروسات على احداث هذين النوعين من التغييرات . فبعض الفيروسات تعمل كمادة مرضية فقط ، وبعضها يستطيع القيام بالتغييرين (احداث المرض أو نقل الصفات الوراثية) . وفي عدد كبير من الحالات يتوقف التغيير الذي يحدثه الفيروس على الخلية العائل وعلى الظروف البيئية .

وتختلف الفيروسات في الشكل والحجم (الوزن الجزيئي) والتركيب الكيميائي وطريقة التضاعف (التكاثر) وطريقة غزو خلايا العائل ، وطريقة تكوين فيريونات جديدة . ولكن معظم الفيروسات على درجة كبيرة من التخصص بالنسبة للعائل ، فالفيروسات التي تصيب حيوانا ما لا تصيب حيوانا آخر ، بل أن الفيروسات التي تصيب نسيجا معينا لا تصيب نسيجا آخر . وسنعرض هنا الصفات الطبيعية والكيميائية العامة للفيروسات ، أما الصفات البيولوجية فسيتم مناقشتها منفصلة في الأبواب الخاصة بالفيروسات البكتيرية والنباتية والحيوانية ـ كل على حدة .

الصفات الطبيعية للفيروسات:

١ ـ شكل الفيريونات: Shape of Virions :

يختلف شكل الفيروسات في طورها الخارجي (الفيريونات) اختلافا كبيرا ويمكن تقسيم الفيروسات الى ثلاث مجاميع أساسية وفقا لشكلها .

أ ـ الشكل الحلزوني : Helical

تأخذ الفيروسات الحلزونية أشكالا عديدة (جدول ١٣ ـ ٢) على حسب ما اذا كانت مغلفة بغلاف خارجي Enveloped أم لا ... أو أنها ذات تعبئة منتظمة أو غير منتظمة داخل الغلاف . لذلك ، فالفيروسات الحلزونية قد تكون عصوية Rod-shaped أو خيطية filamenteous أو مثل شكل الرصاصة Bullet-shaped وغيرها من الأشكال . وفيريونات مرض تبرقش الدخان (TMV) Tobacco Mosaic Virus تمثل أبسط وأشهر الأشكال (شكل ١٣ ـ ٢) .

جدول ١٣ـ٢ : الصفات الطبيعية للفيروسات : الشكل العام والحجم والوزن الجزيئي .

أمثلة Virus groups and representatives	الوزن الجزيئي بالدالتون Molecular Weight (Dalton)	القطر بالنانوميتر nm		General feature الشكل العام		
		الفيريون Virion	الحمض النووي Nucleic acid	الشكل الظاهري Morphology	معراه أو مغطاه Naked or enveloped	تماثل المحفظة Capsid symmetry
كلها فيروسات نباتية مثل : فيروس تبرقش الدخان TMV وفيروس اكس البطاطس	$١٠^{٦}$ x ٢ر١	٢٠ – ١٥ x ٢٠٠		عصوي أو خيطي	معراه Naked	حلزونية Helical
Orthomyxovirus مثل فيروسات الانفلونزا	$١٠^{٦}$ x ٢ر٥	١٢٠ – ٨٠	٩ – ٦	كروي	مغطاة Enveloped	حلزونية Helical
Metamyxovirus	$١٠^{٦}$ x ٨ – ٤	٢٠٠–١٠٠	١٥ –١٢	كروي	..	..
Paramyxovirus مثل فيروس مرض النيوكاسل والغدد النكفية mumps وغيرها .	$١٠^{٦}$ x ٧	٢٥٠–١٠٠	١٨	الى بيضاوي	..	..
Pseudomyxovirus مثل فيروس مرض الحصبة .	$١٠^{٦}$ x ٧	٢٠٠–١٠٠	١٨		..	..
Rhabdovirus مثل فيروسات مرض الكلـ	$١٠^{٦}$ x٥ – ٢	١٨٠ – ٧٠ أو أطول	١٨	شكل الرصاصة Bullet أو مخروطي Conical		
Coronavirus مثل فيروس التهاب الشعب الهوائية المعدي في الدجاج		١٦٠ – ٨٠	؟	شكل الكمثري Pear-shaped		
Leukovirus مثل فيروس سرطان الدم في الأبقار	$١٠^{٦}$x١٢ – ١٠	١٠٠–٥٠	؟	شكل غير منتظم		

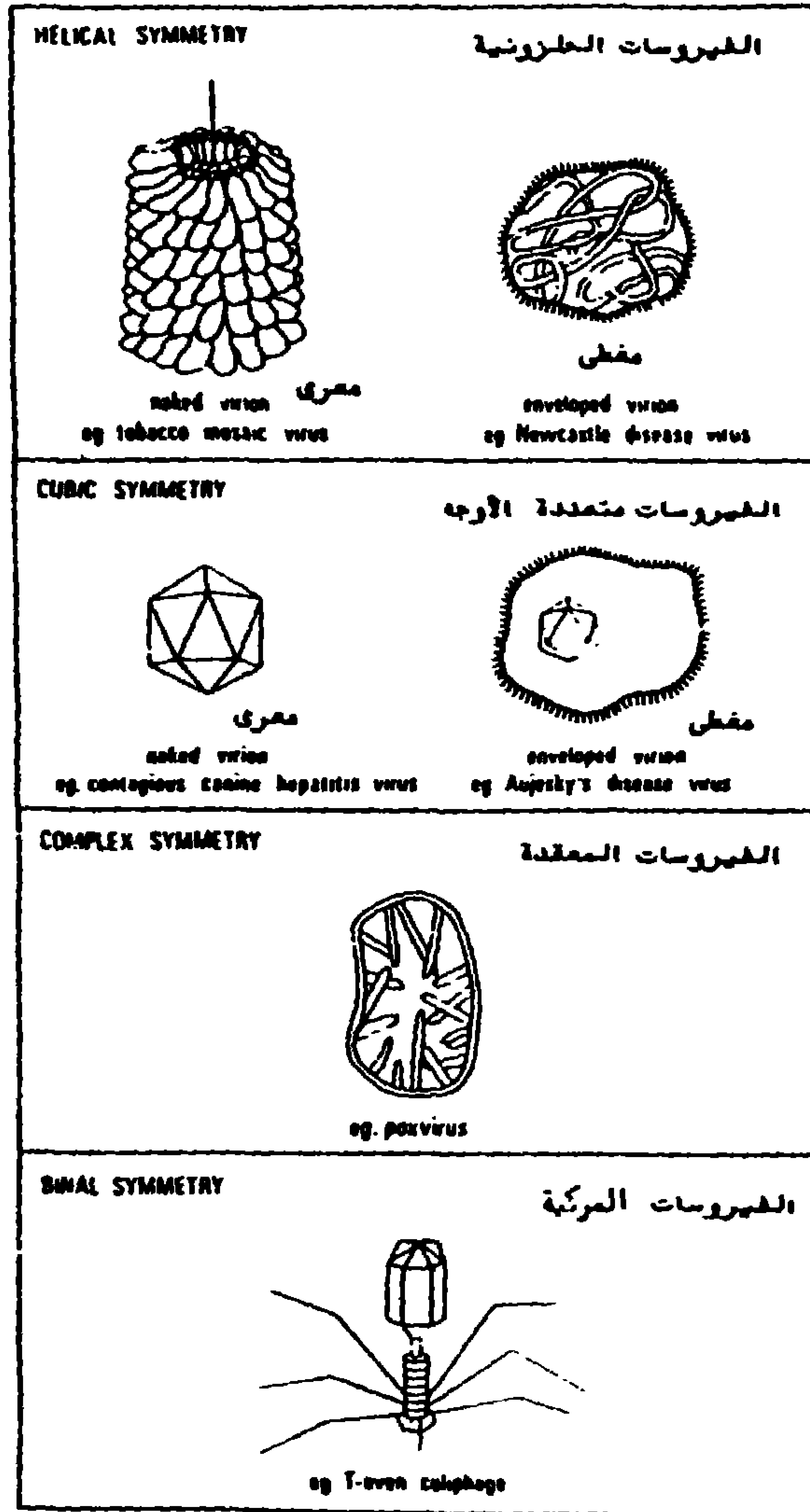
تابع جدول ١٣ـ٢ : الصفات الطبيعية للفيروسات : الشكل العـــــام والحجم والوزن الجزيئى .

أمثلة Virus groups and representatives	الوزن الجزيئى Molecuar weight (Dalton)	القطر الفيريون بالنانومتر Diameter (nm) Virion	General feature الشكل العام عدد الكابسومرات	الشكل الظاهرى Morphology	معراه أو مغطاه Naked or enveloped	تماثل المحفظة Capsid symmetry
Picornavirus مثل فيروس مرض شلل الأطفال .	٢ر٢ x $١٠^{٦}$	(١٨) — ٣٠	٦٠ أو ١٨٠	متعدد الأوجه	معراه Naked	متعدد الأوجه Icosahedral
Rhinovirus مثل فيروس مرض القدم والفم (الحمى القلاعية)	٢ر٢ — ٨ر٢ x $١٠^{٦}$	٢٠ — ٣٠				تحتوى على ر ن أ
Calcivirus مثل فيروسات	٢ x $١٠^{٦}$	٣٥ — ٤٠	٦٠ x ١ أو ٦٠ x ٢	متعدد الأوجه كابسومرات مقعرة		
Reovirus	١٠ — ١٥ x $١٠^{٦}$	٦٠ — ٧٥				
Rotavirus مثل فيروس مرض الاسهال الحاد فى العجول الصغيرة . Calf		٦٠ — ٦٦	٩٢ (١٨٠)	ذو غطائين واضحين		
Orbivirus مثل فيروس اللسان الأزرق ومرض الحصان الافريقى .		(٥٣) — ٦٨ — (٨٠)	٩٢ (١٨٠)	ذو غطاء واحد واضح		
Togavirus مثل فيروس مرض اللسان الأزرق ومرض الحصان الافريقى	٤ر٣ x $١٠^{٦}$	٣٠ — ١٠٠	٣٢		مغطاه	متعددة الأوجه تحتوى على ر ن أ RNA

تابع جدول ١٣ـ٢ : الصفات الطبيعية للفيروسات : الشكل العـــام والحجم والوزن الجزيئي ·

أمثلة Virus group and Representatives	الوزن الجزيئي Molecular weight (Dalton)	قطر الفيروس بالنانومتر Diameter of Virion (nm)	General Feature الشكل العام			
			أ ... د الكابسومرات No. of Capsomers	الشكل الظاهري Morphology	معراه أو مغطاه Naked or enveloped	تماثل المحفظة Capsid semmetry
Parvovirus	١ر٢ – ١ر٨ × $١٠^{٦}$	١٨ × ٢٤	(١٢) أو ٣٢	متعـددة الأوجــه	معراه	متعددة الأوجه تحتوي على د ن أ DNA
Polyomarvirus مثل فيروس مرض شلل الأطفال ·	٣ر٢ – ٥ × $١٠^{٦}$	٤٠ – ٥٥	٧٢	·· ··	معراه	
Adenovirus	٢٠ – ٢٥ × $١٠^{٦}$	٧٠ – ٩٠	٢٥٢	·· ··	معراه	
Herpes virus مثل فيروسات الهربس	٥ – ١٠ × $١٠^{٧}$	بالغلاف ١٥٠ – ٢٠٠ عند ازالة الغلاف	١٦٢		معطاه	متعددة الأوجه تحتوي على د ن أ DNA
T even phages مجموعة فيروسات تي ذات الأرقام المزدوجة وفيروس لامبدا ، وكلها تصيب بكتيريا القولون · *E.coli*				مركب أو معقـد يتكون من رأس وذيل قابل للانقباض وليفات ذيلية	معراه	Binal مركب Complex أو معقد تحتوي على د ن أ DNA
Poxvirus مثل فيروسات الجدري	١ر٥ – ١ر٦ × $١٠^{٨}$	٧٠ – ٢٥٠ × ٢٠٠×٢٢٥	–	شكل معقد	مغطـــاه	مركب أو معقد تحتوي على د ن أ DNA
Parapoxvirus مثل فيروسات الأورف		٧٠ – ٢٥٠ × ٢٠٠×٢٢٥	–	شكل معقد (مثل كرة الصوف)	معطـــاه	...

شكل ١٣-٢ : رسم تخطيطي يوضح شكل الفيريونات الحلزونية ومتعددة الأوجه المغطاة والمعراة وكذلك الفيريونات المعقدة والمركبة ٠



ب - الشكل عديد الأوجه : Icosahedral

تبدو كثير من الفيروسات في صورة كروية spheres أو ذات شكل مكعبي Cubic (جدول ١٣-٢) ، ولكن الفحص الدقيق لهذه الأشكال يوضح أن هذه الفيريونات ذات شكل جيومتري Geometrical

خاص متماثل المحاور Isometric يشبه الكرة ، ولكن له أوجه عديدة مثلثة الشكل مستديرة الأركان ، ويسمى هذا الشكل باسم عديد الأوجه Icosaheral أو عديد الأسطح Polyherdral ، ويخضع تكون هذه الأشكال الجيومترية لقوانين التبلور Crystallography فأصغر كرة متعددة الأوجه تحتوى على ١٢ ركن corner و ٢٠ وجه مثلث و ٣٠ ضلع · والفيريونات متعددة الأوجه تأخذ هذه الأشكال نتيجة لترتيب الوحدات البروتينية Protein subunits المعروفة باسم الكابسومرات Capsomers فى ترتيب خاص يسمى المحفظة Capsid أو الغطاء البروتينى Protein coat حول الحمض النووى الذى يشكل لب Core الفيريون ·

وقد تكون الفيريونات عديدة الأوجه ـ أيضا ـ بدون غلاف خارجى (معراة) Naked مثل الفيريونات التابعة لعائلة Parvo-viruses مثل فيروس الأدينوستاليت Adenosatallite وفيروس الكوليفاج فاى أكس ١٧٤ (ØX 174 Coliphage) والفيريونات التابعة لعائلة بابوفا Papova viruses مثل فيروس البوليوما Polyoma وفيروس البابيلوما Papilloma virus · كما أن بعض الفيريونات عديدة الأوجه المعراة قد تحتوى على زوائد spikes خاصة عند رؤوس المثلثات كما فى فيروسات ادينو Adenoviruses وقد تكون الفيريونات عديدة الأوجه مغلفة (مغطاة) enveloped بغلاف خارجى يشبه فى تركيبه الأغشية الخلوية ، ومن أمثلة فيريونات هذه المجموعة الفيريونات التابعة لعائلة Herpesviruses مثل فيروس هربس سمبلكس Herpes simplex ـ ويوضح الشكل (١٣ـ٢) رسما تخطيطيا لتوضيح كلا من الفيريونات الحلزونية ومتعددة الأوجه المعراة والمغطاة ·

جـ ـ الشكل المركب Binal أو المعقد Complex

ويكون بعض أجزاء الفيريون حلزونى والبعض الآخر متعدد الأوجه مثل الفيريونات التى تهاجم بكتيريا القولون والمعروفة باسم تى مزدوجة الأرقام T even phage وهى تتكون من رأس ذو شكل عديد الأوجه

وذيل حلزونى Helical قابل للانقباض Contractile tail وليفـــات ذيلية Tail fibers (شكل ١٣ـ٢) . ويعمل الذيل والليفات الذيلية على امتزاز الفيروس للخلية العائل دون غيرها ، وكذلك على حقن الحمض النووى داخل العائل ، ويتبقى البروتين المكون للرأس والذيل والليفات الذيلية خارج الخلية .

ومن أمثلة ذلك ـ أيضا ـ فيروسات الجدرى Poxviruses وهـــى تحتوى على جسم داخلى يسمى شبيه النواه Nucloid وشبيه النـواه محاط بغشاء مزدوج . مع وجود أجسام جانبية مستديرة Lateral bodies حول شبيه النواه ... أما الغطاء الخارجى للفيروس فيحتوى على شعيـرات أنبوبية من البروتين ، ويختلف ترتيبها على حسب المجموعات المختلفـة للفيروس ، حيث يعطى شكل ثمرة التوت أو شكل كرة الصوف ويمكن مراجعـة أشكال الفيروسات بأحجامها التقريبية فى جدول (١٥ـ٢) ...

٢ـ حجم الفيريونات: Size of virions

تختلف الفيريونات فى حجمها كثيرا ، فهى تتراوح ما بين ١٠ـ٢٥ نانوميتر (١ نانوميتر = $١٠^{-٩}$ متر) . فحجم الفيريونات الصغيرة مثـــل ام٠اس٢ (MS2) أصغر من حجم جزيئات البروتين الكبيرة ، مثـــل البيومين البيض مثلا ، ولو أن أكبر الفيروسات مثل (الفاكسينيا Vaccinia) تكاد تصل فى حجمها الى حجم أصغر الخلايا البكتيرية مثل المايكوبلازمـا أو الركتسيا أو الكلاميديا . ويوضح الجدول (١٥ـ٢) أمثلة للفيروسـات المختلفة وأشكالها وأحجامها التقريبية .

٣ـ الوزن الجزيئى للفيريونات: Molecular weight of virions

يختلف الوزن الجزيئى للفيريونات اختلافا كبيرا باختلاف محتواهـا من الأحماض النووية والبروتينات وغيرها من المكونات ويصل الوزن الجزيئى لأكبر الفيريونات حوالى مائة مرة قدر الفيريونات الصغيرة ، حيث يتـراوح

الوزن الجزيئى للفيريونات المختلفة من ٢×١٠^٦ الى ٢×١٠^٨ دالتون • والجدول (١٤ـ٤) يوضح الوزن الجزيئى لبعض الفيريونات•

ثامنًا: تنقية الفيروسات وطرق دراستها

١• تنقية الفيروسات:

تختلف طرق تنقية الفيروسات عن طرق تنقية الأحياء الدقيقة الأخرى لدقتها المتناهية ، وبالرغم من امكان التعرف على عدة مئات من الأمراض الفيروسية ، فقليل من هذه الفيروسات أمكن عزلها وتنقيتها بدرجة عالية ، والسبب الرئيسى لذلك هو أن الفيروسات تتضاعف داخل الخلايا الحية فقط ، فتختلط مكونات الفيروسات مع مكونات الخلايا المصابة ، وقد تمتز الفيروسات أو تلتصق مع المكونات الخلوية اما قبل أو أثناء التنقية • كما أن جسيمات الفيروسات قد تتجمع مع بعضها مكونة كتل Clumps تفقد بسهولة مع الشوائب الخلوية أثناء خطوات التنقية الأولى • كما تتلخص صعوبة تنقية بعض الفيروسات فى وجودها على صورة غير ثابتة unstable أو صورة حمض نووى حربدون غطاء بروتينى • وأحيانا يكون تركيز الفيروس منخفض جدا فى أنسجة العائل مما يسبب صعوبة تنقية الفيروس وعزله •

ومع ذلك فقد أمكن عزل وتنقية بعض الفيروسات ، وعلى أى حال فان كل فيروس له من الصفات ما يحدد صعوبة أو سهولة عزله وتنقيته مثل طبيعة العائل والحالة الخلوية وسلالة الفيروس وغيرها • وتعتمد تنقية الفيروسات على صفتين هامتين :

أ ـ الغلاف الخارجى :

وهو يتكون عادة من البروتينات ، لذلك فكثير من طرق التنقية

تعتمد على طرق تنقية البروتينات٠

ب ـ الصفات الفيزيائية للفيروسات:

فالفيروسات لها حجم وشكل وكثافة تؤدى الى ترسيبها على ٠٠٠ر٤٠ ج (g) مرة قدر الجاذبية الأرضية أو فصلها بالترشيح من خلال مرشحات ذات ثقوب محددة القطر٠

ولبيان كفاءة طريقة التنقية من الضرورى تقدير قدرة الفيروس على احداث العدوى خلال خطوات التنقية المختلفة ٠ وكذلك من الضرورى معرفة تأثير بعض العوامل مثل تغير p^H ودرجة الحرارة وتأثير الأملاح والمواد الكيميائية المختلفة ٠ وفى حالة عدم توفر هذه المعلومات فيمكن بدء التنقية على درجة ٤°م وعلى درجة p^H ٧ فى محلول منظم فوسفاتى تركيزه ٠١ر الى ١ر مولر أو فى محلول رنجر ، ويمكن تلخيص طرق تنقية الفيروسات فيما يلى :

أ ـ التنقية بالطرد المركزى ـ الطرد الكثافى المتدرج :

Differential centrifugation and density gradient centrifugation

وهى تعتمد على فصل جسيمات الفيروس جزئيا أو كليا على أساس كثافتها فى وسط خالى من تيارات الحمل أو المؤثرات التى تؤدى الى اعادة اختلاط مكونات السائل المحتوى على الفيروسات، وتستخدم لذلك محاليل السكروز أو كلوريد السيزيوم حيث يترسب الفيروس حسب كثافة جسيماته وشكلها وحجمها عند تعريضه لطرد مركزى يتراوح بين ٤٠٠٠٠ ، ١٠٠٠٠٠ (ج) مرة قدر الجاذبية الأرضية لمدة ١ـ٢ ساعة على درجة حرارة منخفضة.ثم تجمع طبقة الفيروس بعد ذلك من ثقب فى أسفل الأنبوبة فى أنابيب اختبار متعددة ٠ ثم تختبر العدوى من الأنابيب المختلفة للحصول على الأنبوبة التى بها أعلى كمية من الفيروس٠

ب ـ التنقية بطرق الترسيب: Precipitation methods

من أكثر طرق الترسيب شيوعا هى استخدام ملح كبريتات الأمونيوم وهو ملح معروف فى ترسيب البروتينات نتيجة فعله (Hydration) على البروتينات وتأثيره على الشحنات الكهربية التى يحملها البروتين . كذلك تستخدم أملاح أخرى مثل كبريتات المغنسيوم وكذلك بعض الكحولات مثل كحول الايثانول أو المذيبات العضوية الأخرى كالبيوتانول والكلوروفورم . وقد يكون الترسيب اما للفيروس نفسه أو للشوائب المختلطة معه ، وطريقة الترسيب طريقة سريعة وبسيطة ولكنها غير دقيقة وتؤدى الى تجميع بروتينات الفيروس ، وتعتبر طريقة الترسيب عموما وسيلة لتركيز الفيروسات فى المحاليل المخففة لها .

ج ـ التنقية بطرق الامتزاز : Adsorption methods

وذلك بامتزاز الفيروس أو الشوائب المختلطة معه على مواد مختلفة مثل فوسفات الألومنيوم أو فوسفات الكالسيوم أو هيدروكسيد الحديد أو هيدروكسيد الالومنيوم أو الكاؤولين أو الصلصال أو الفحم النشط أو الألومنيا أو الشيتين أو كرات الدم الحمراء أو الداكسترنات المختلفة أو أى مادة ممتزة ومتوفرة يمكن استعمالها . وطرق التنقية بالامتزاز غير كافية ويلزم استخدامها مع طرق تنقية أخرى .

د ـ التنقية بالانزيمات: Enzyme methods

تستخدم الانزيمات المحللة للبروتينات والتى لا تؤثر على بروتين الفيروسات فى ازالة كثير من الشوائب المختلطة مع الفيروسات ، كما تستخدم الانزيمات المحللة للأحماض النووية أيضا لازالة الأحماض النووية الحرة المختلطة مع الفيروسات دون التأثير على الفيروسات .

هـ - التنقية باستخدام المصل المضاد : Antiserum method

أحيانا يستعمل المصل لترسيب بروتينات العائل (الشوائب) وأحيانا يستخدم المصل لترسيب الفيروس نفسه ، وفي كلا الحالتين يستخدم الطرد المركزي التفريقي أو طريقة أخرى لفصل الشوائب أو الفيروس من الخليط . وعند وجود الفيروس مرتبطا مع بروتينات المصل المضاد فان المعاملة بالانزيمات تؤدي الى التخلص من البروتينات المرتبطة بالفيروس.

و- التنقية باستخدام الهجرة في مجال كهربي : Electrophoresis

تختلف قوة جذب الفيروسات والشوائب المختلطة معها الى قطبي مجال كهربي على حسب كمية الشحنات الكهربائية ونوعها الموجودة على الفيروسات أو على الشوائب عند درجة معينة من تركيز الأس الأيدروجيني pH وتستخدم هذه الطريقة في تنقية الفيروسات على الأوساط الصلبة مثل Electrophoresis أو شرائط الورق Paper strips.

ز- التنقية بالفصل الكهروماتوجرافي الهلامي :

Gel chromatography

يستخدم لذلك أنواع من الهلام مثل الأجاروز Agarose والدكسترانات Dextrans والبولي أكريلاميد Polyacrylamide وهي مواد ذات ثقوب مختلفة الأقطار . وعندما يمر خلالها خليط من المواد ذات أحجام مختلفة خلال عمود الهلام (الجل) فان الجزيئات الصغيرة تنفذ خلال الهلام وتمر ببطء ، بينما الجزيئات الكبيرة لا تنفذ خلال الهلام وتمر بسرعة ، وبهذه الطريقة يمكن فصل الجزيئات على حسب حجمها .

ويمكن استخدام هذه الطريقة لفصل الفيروسات الى مجاميع على حسب حجمها .

ح - التنقية بطريقة تلازن الدم : Haemagglutination

تستخدم هذه الطريقة لتنقية الفيروسات التى لها القدرة على تلازن كرات الدم الحمراء مثل فيروسات الانفلونزا والنيوكاسل عن غيرها من الفيروسات أو الشوائب التى ليس لها مقدرة تلازن الدم ، حيث يضاف مخلوط الفيروس الى معلق ١٠٪ كرات الدم الحمراء المغسولة ثلاث مرات فى محلول ملح فسيولوجى معقم . ويترك الخليط على درجة ١٨°م أو ٤°م لمدة ٣٠ - ٦٠ دقيقة حتى تحدث عملية التلازن ، ثم يوضع المحلول فى جهاز الطرد المركزى (١٠٠٠ لفة فى الدقيقة / لمدة خمس دقائق) ويفصل المحلول الرائق فى أنبوبة معقمة ، أما كتل كرات الدم الحمراء فتترك على ٣٧°م ، حتى تنفصل الفيروسات عن كرات الدم الحمراء بفعل انزيم النيورامينيديز الموجودة على غلاف فيروسات الانفلونزا والنيوكاسل . ثم يطرد الخليط بعد ذلك مرة أخرى بفصل الكرات الحمراء الراسبة فى أسفل الأنبوبة عن الفيروس فى السائل .

تهدف كل طرق التنقية السابقة الى الحصول على تحضير نقى متجانس بهدف دراسته ، وتفيد اختبارات العدوى فى التعرف وتشخيص الفيروسات المختلفة .

وبعض الطرق المتبعة لتقدير درجة التجانس فى التحضيرات الفيروسية هى :

أ - معدل الترسيب فى الطرد المركزى العالى السرعة .
ب - الفحص بالمجهر الالكترونى .
ج - قياس درجة الهجرة فى مجال كهربى Electrophoresis
د - الاختبارات المصلية
هـ - معايرة العدوى .
و - استخدام التصوير بأشعة اكس .
ز - اختبارات الذوبان .
ح - القابلية للتبلور .

ويجب الاشارة الى ضرورة استخدام أكثر من طريقة للتأكـد مـن التجانس... اذ أن بعض التحضيرات قد تكون متجانسة فى بعض الخـواص ، ولكنها غير متجانسة فى خواص أخرى .

٢ـ الطرق الفيزيوكيميائية لدراسة الفيروسات:

سبق الاشارة الى الشكل والحجم والوزن الجزيئى للفيروسات. كما أن الجدول (١٣ـ٢) وضح الشكل العام للفيروسات والقطـر بالنانوميتر لكل من الفيريون نفسه والحمض النووى الداخل فى تركيبه ، وكذلك الوزن الجزيئى لجسيمات الفيريون.

ويجرى تقدير الوزن الجزيئى بالدالتون ، وهـو وزن ذرة الهيدروجين والتى تعادل ١,٦٧ × ١٠ $^{-٢٤}$ جرام . ويمكن تقديـر الوزن الجزيئى بالفصل الكروماتوجرافى الهلامى Gel chromatography أو الهجرة فى مجال كهربى Electrophoresis مع استعمال منحنى قياسى لعدد من البروتينات أو المركبات العضوية ذات الجزيئات الكبيـرة Macromolecules المعلومة الوزن الجزيئى ... أما تحديد الحجم وشكل جسيمات الفيروس فيتم تحديده بأحد الطرق التالية :

أـ الترشيح خلال مرشحات ذات مسام متدرجة القطر :

تستخدم حاليا مرشحات ذات قطر محدد بدقة مثل المرشحـات ذات الغشاء الرغوى Collodion membrane أو ذات الغشاء المركب من خلات السليلوز ، ويتراوح قطر الأغشية المستخدمة فى قياس حجـم جسيمات الفيروس بين ١٠ نانوميتر الى ٣ ميكروميتر ، ومن أهم مزايا هذه الأغشية أنها غير سامة للفيروسات ، ولا تغير درجة تركيز الهيدروجيـن للوسط المحتوى على الفيروس ، ولا تمتز كميات كبيرة من الفيروسات أثنـاء عملية الترشيح ، ومن عيوبها عدم تجانس حجم مسام هذه الأغشيـة ، ولذلك يحسب متوسط قطر المسام.

وقد تمكن الباحثين ـ حديثا ـ من ايجاد نظام مرشحات فائقة الدقة Ultrafiltration system تتميز بأقطار محددة ومعروفة تماما بأرقام ثابتة ومتسلسلة وتعرف ـ تجاريا ـ باسم Amicon ultrafiltration system.

ب ـ الترسيب بالطرد المركزى الفائق السرعات:

High speed centrifugation

تعتمد طرق قياس الحجم وكثافة الفيروسات بهذه الطريقة على أساس أن سرعة ترسيب الجسيمات فى مجال طرد مركزى على حجم وكثافة الجسيمات المعلقة وكثافة المحلول المعلق فيه.

ويمكن حساب حجم الفيروس من كثافة ولزوجة السائل الموجودة به الجسيمات والمسافة بين محور الدوران وسرعة الدوار Rotor. كما تستخدم طرق الطرد الكثافى المتدرج وطرق الهجرة فى مجال كهربى والفصل الكروماتوجرافى لتقدير حجم الفيروسات أيضا وفقا لما هو متبع فى تقدير حجم الجزيئات الكبيرة كالبروتينات.

جـ ـ المجهر الالكترونى :

سبق شرح المجهر الالكترونى فى الفصل الثالث، وتمت الاشارة الى طرق الصبغ السالب والتظليل بالمعادن، ويستخدم المجهر الالكترونى بكفاءة عالية فى قياس حجم وشكل الفيروسات.

تاسعا : الفيرويدات : Viroids

وهى كائنات أصغر حجما من الفيروسات، وتسبب عددا من أمراض النبات الهامة مثل الدرنة المغزلية فى البطاطس Potato spindle tuber، وكان يعتقد أنها فيروسات صغيرة، ولكن ثبت أ

هذه الفيرويدات تتكون من جزيئات رنأ صغيرة وحيدة السلسلة وربما تكون مزدوجة السلسلة في بعض أجزاء منها ، وليس لها غطاء بروتيني (محفظة) كتلك المعروفة في الفيروسات ·

والوزن الجزيئي لهذه الفيرويدات يتراوح ٧٥٠٠٠ـ ١٠٠٫٠٠٠ دالتون ، ويبدو أن هذه الفيرويدات تنتقل transmitted أفقيا horizontally من نبات الى نبات بالطرق الميكانيكية كما تنتقل رأسيا vertically من خلال حبوب اللقاح pollen أو البويضات Ovules. وليس معروفا الآن بدقة ما اذا كانت هذه الفيرويدات تؤثر على خلايا العائل مباشرة أو عن طريق تكوين سلسلة ببتيدية مترجمة من المعلومات الوراثية على الحمض النووي رنأ · كما أن طريقة تضاعف هذه الفيرويدات في الخلايا العائل مازالت محل بحث ودراسة ·

وجود هذه الفيرويدات في الخلايا الحيوانية مازال سؤالا مطروحا أمام المختصين في هذا المجال · وحتى ان وجدت فهل تنقل أمراضا معينة من شخص لآخر أو أنها تتكون نتيجة لاصابة فيروسية ؟

والمعلومات المتوفرة عن هذه الكائنات مازالت محدودة جدا ·

الفصل الرابع عشر
التركيب الكيميائى للفيروسات

Chemical Composition of Viruses

تتبادل الفيروسات أثناء دورة حياتها طورين أساسيين . احدهما خارج الخلية العائل Extracellular Phase والثاني داخل الخلية العائل intracellular Phase والطور الخارجي عبارة عن جزىء خامل ، ويسمى الفيريون ، وهو قادر على اصابة الخلايا الحساسة لـه.

ويحتوى الفيريون عادة على نسخة واحدة من الحمض النووى الريبوزى (رن أ) RNA أو الحمض النووى الدى أوكس ريبوزى (د ن أ) DNA ، والحمض النووى الموجود فى جسيم الفيريون هو لب Core الجسيم الفيروسى ، ولا يحتوى الفيريون على أكثر من حمض نووى واحد ، اما الحمض النووى الريبوزى (رن أ) RNA أو الحمض النووى الدى أوكس ريبوزى (د ن أ) DNA . ويحاط الحمض النووى لجسيم الفيريون بغطاء بروتينى Protein Coat يسمى المحفظة Capsid . وكثير من الفيريونات المعروفة لا تزيد فى تركيبها عن ذلك ، وتسمى مثل هذه الجسيمات بال Nucleocapsid أما بعض الفيريونات الأخرى مثل بعض الفيروسات الحيوانية ، فان النيكليوكابسيد Nucleocapsid يغلف بغلاف خارجي envelop وكثيرا ما يشبه الغلاف الخارجي فى تركيبه الغشاء الخلوى للخلايا العائل ، أما الطور الداخلى للفيروسات Intracellular Phase فهو يتواجد داخل خلايا العائل على صورة حمض نووى آخذ فى التضاعف تمهيدا لتكوين فيريونات جديدة ، وتتوقف الصورة التى يوجد عليها الطور الداخلى على طول الفترة التى مضت منذ وقت حدوث غزو الخلية بالفيروس . فخلال الطور الداخلى لا يتم تضاعف المادة الوراثية للفيروسات (الأحماض النووية) فقط ، بل أن هذه المادة الوراثية تعمل كأساس (كقالب) وراثى لبناء بروتينات المحفظة (الغطاء البروتينى) لجسيمات الفيريونات.

وفيما يلى نناقش كل مكون من مكونات الفيريونات:

أولاً : الأحماض النووية : Nucleic acids

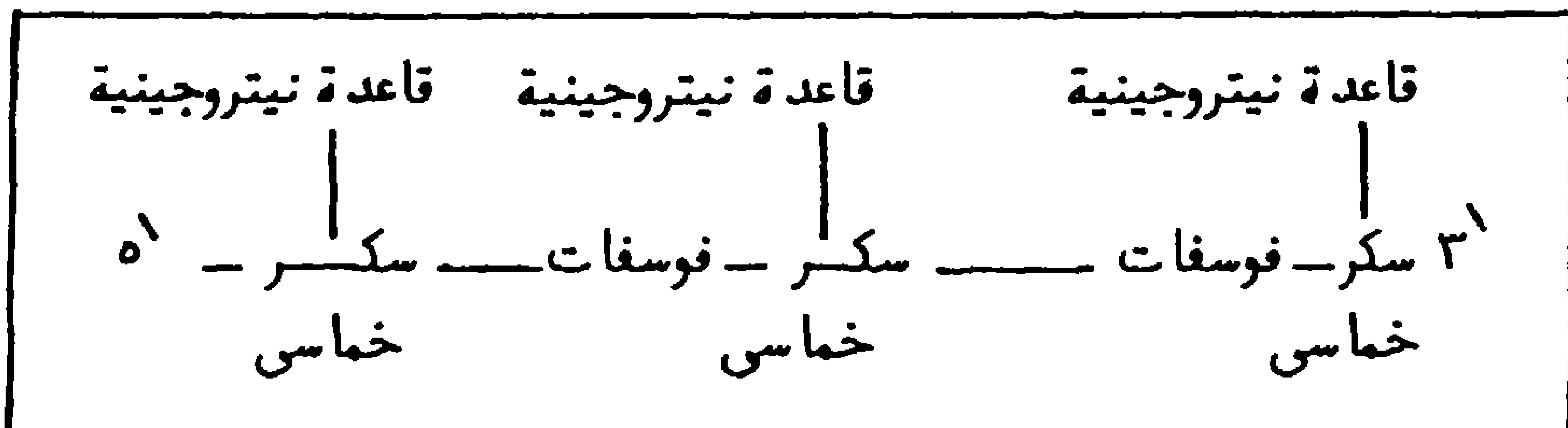
تعتبر الأحماض النووية أهم المكونات الكيميائية للفيروسات ، وذلك لكونها تحمل المعلومات الوراثية للفيروسات وغيرها من الكائنات ذات التركيب الخلوى ، وذلك لأنها مسئولة عن حمل وانتقال التعليمات الجينية (الصفات الوراثية) . كما أنها تتحكم في ترجمة هذه التعليمات عند تكوين البروتينات المختلفة بالخلايا ، وذلك بتحكمها في ترتيب وتتابع الأحماض الأمينية لكل بروتين يتكون بكل خلية . والأحماض النووية لها وزن جزيئى مرتفع حيث أنها عبارة عن نيوكليوتيدات عديدة Polyn-ucleotides وحدتها البنائية هى النيوكليوتيدات.

مكونات الأحماض النووية

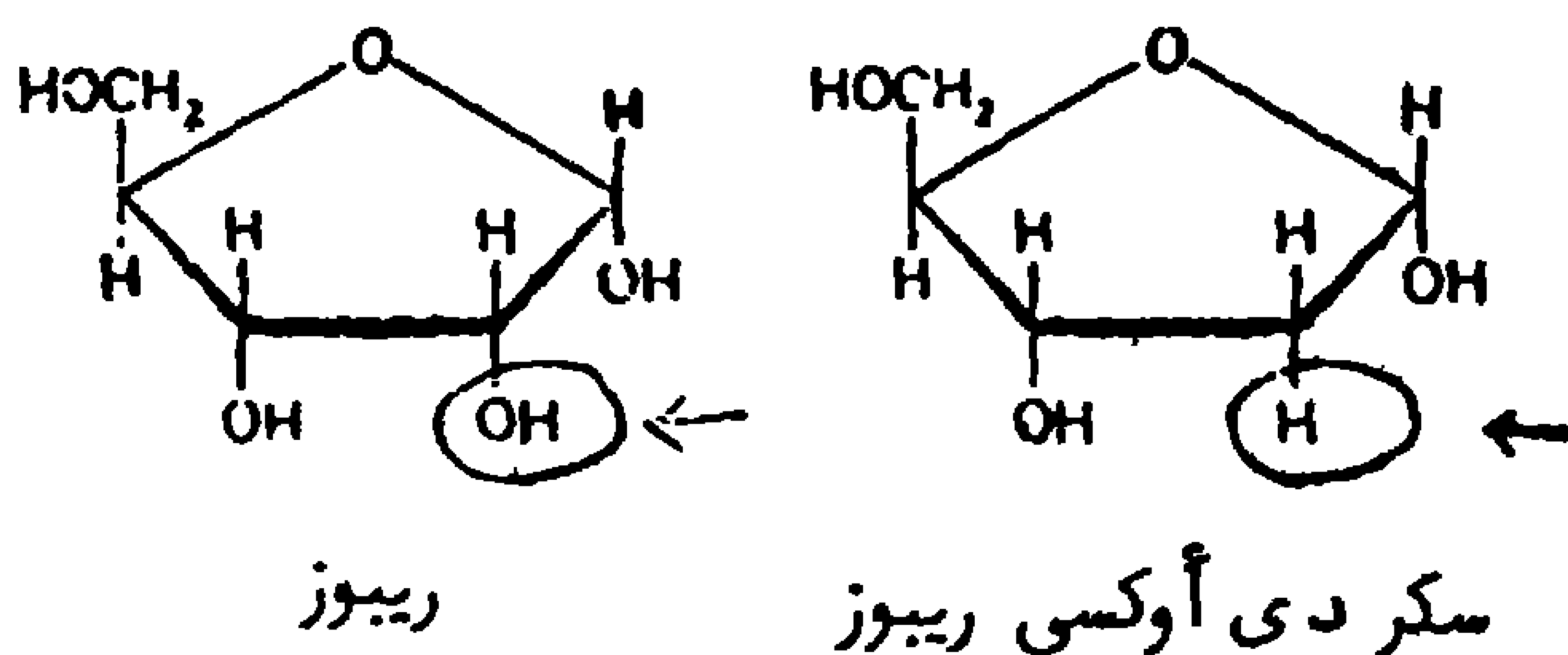
يوجد نوعين من الأحماض النووية هما الحمض النووى / الدى أوكس ريبوزى Deoxyribonucleic acid ويرمز له عادة بالرمز (د ن أ) DNA والآخر هو الحمض النووى الريبوزى Ribonucleic acid ويرمز له عادة بالرمز (رن أ) RNA .

ويتكون الهيكل الأساسى لهذين النوعين من الحمضين النوويين من سلاسل بها جزئيات فوسفات وسكر خماسى بالتبادل (شكل ١٤ـ١)

شكل ١٤ـ١ : الهيكل البنائى للأحماض النووية



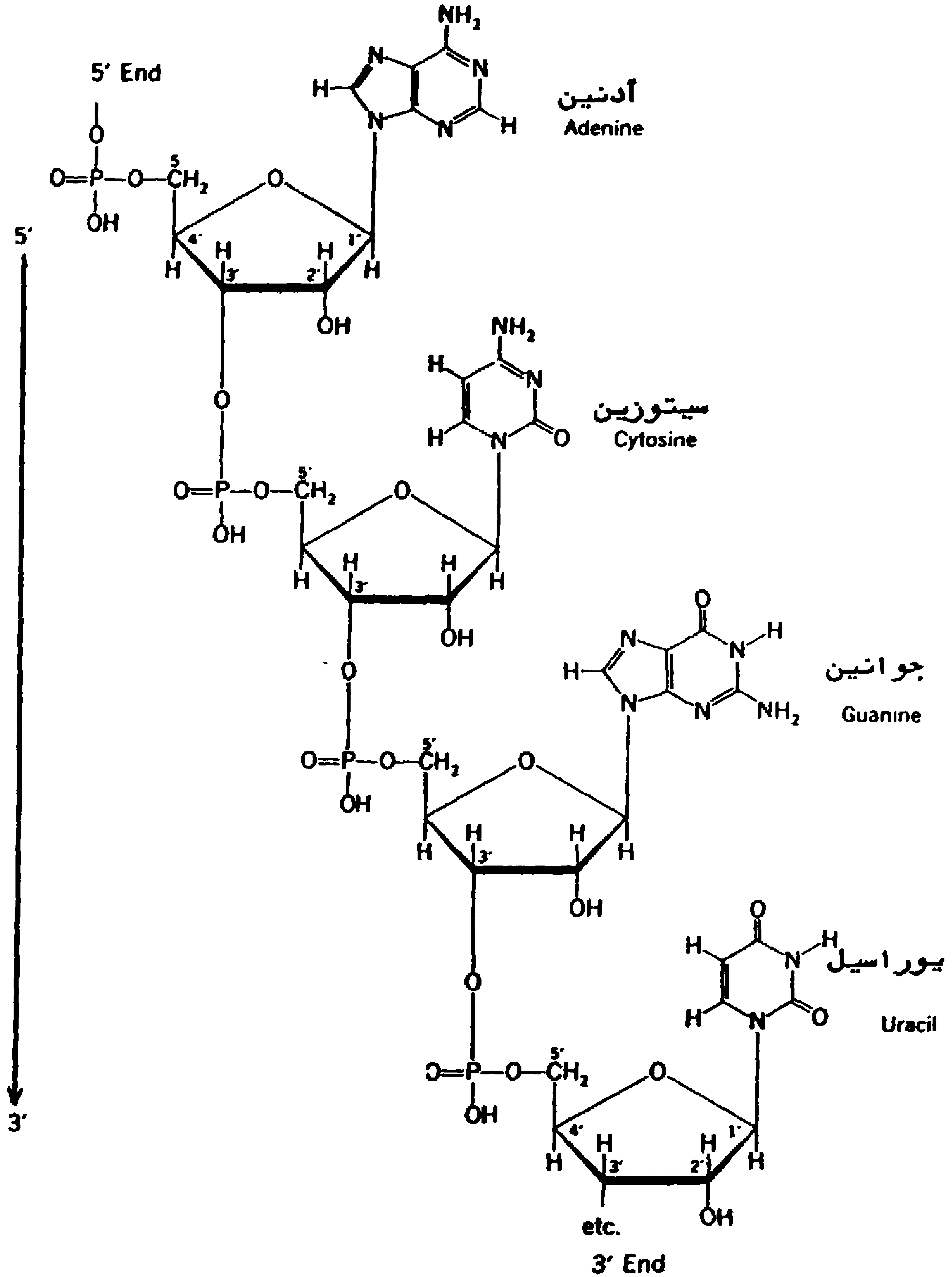
ويتصل بكل جزئ من جزئيات السكر قاعدة نيتروجينية اما من نوع البيورين أو البريميدين ، والسكر الموجود بجزئ الحمض النووى رن أ RNA هو سكر الريبوز ، بينما فى جزئ الحمض النووى د ن أ DNA فان السكر الموجود هو سكر دى ـ أوكس ـ ريبوز Deoxyribose وتعنى أنه سكر ريبوز منزوع منه ذرة أوكسجين من ذرة الكربون رقم ٢ ، ويوضح الشكل ١٤ـ٢ التركيب البنائى لكلا من الريبوز والدى ـ أوكس ـ ريبوز .



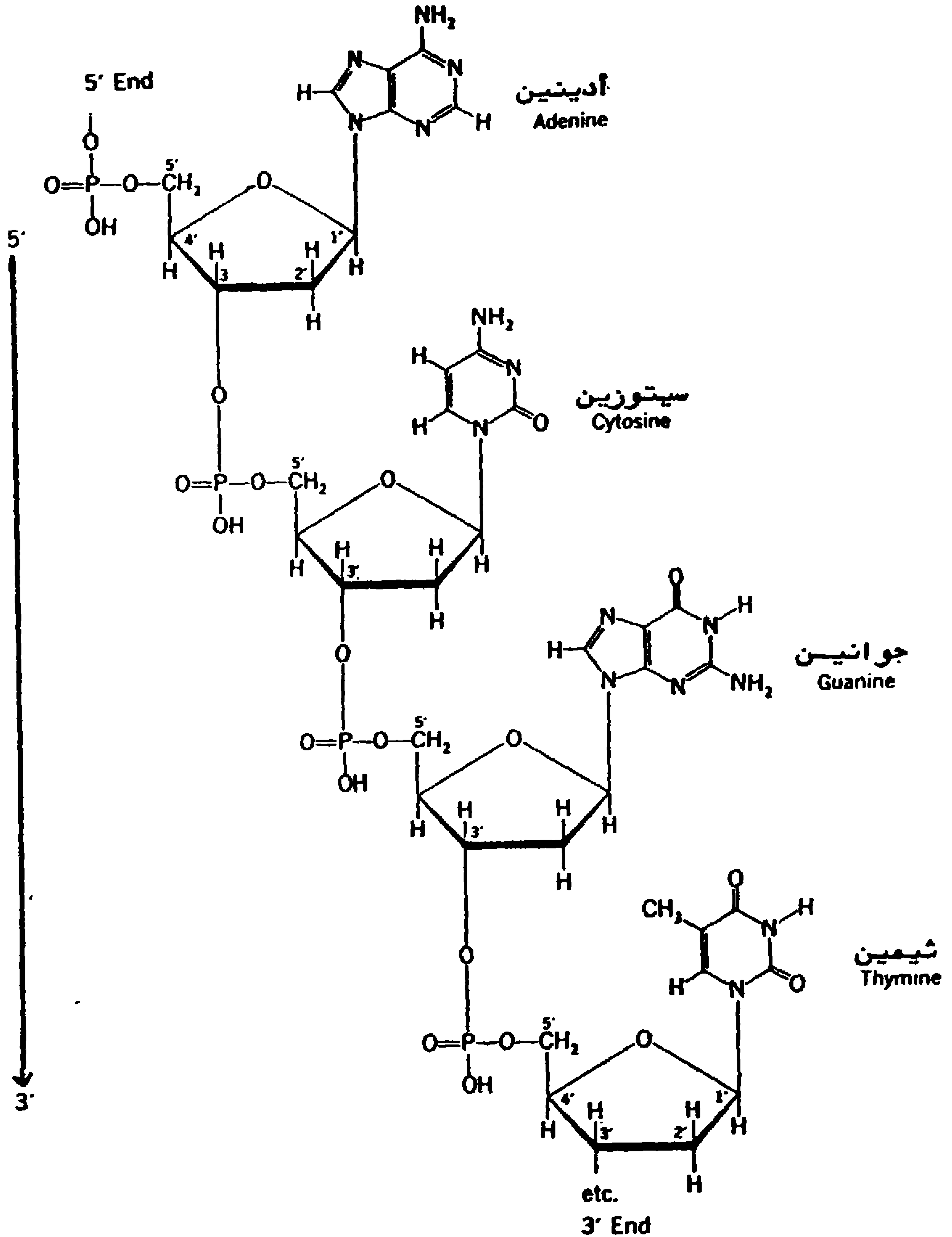
شكل ١٤ـ٢ : التركيب البنائى لكلا من الريبوز والدى أوكس ريبوز

ومن الملاحظ أن الأحماض النووية تتركب من وحدات متكررة مكونة من قاعدة نيتروجينية (بيورين أو بريميدين) وسكر خماسى (ريبوز أو دى ـ أوكس ـ ريبوز) ومجموعة فوسفات ، وكل وحدة من هذه الوحدات المتكررة تسمى " نيوكليوتيد " Neocleotide، وترتبط النيوكليوتيدات الأحادية ببعضها بواسطة جزيء الفوسفات عن طريق رابطة ثنائية الإستر مع مكان المجاميع الهيدروكسيلية الموجودة على الكربون الثالث والخامس (٣/ ، ٥/) بالسكر الخماسى كما يظهر بوضوح فى الشكل (١٤ـ٣ "أ" ، "ب") لكل من رن أ ، د ن أ . والمركب الناتج من ارتباط النيوكليوتيدات الأحادية يعرف باسم عديدات النيوكليوتيدات Polynucleotides .

ويتكون كل نيوكليوتيد أحادى ـ كما سبق أن ذكرنا ـ من مجموعة فوسفات وسكر خماسى وقاعدة نيتروجينية (وعند انفصال مجموعة الفوسفات من المركب المذكور فان الناتج يسمى نيوكليوسيد Nucleoside وعلى ذلك فان النيوكليوسيدات Nucleosides عبارة عن مركبات

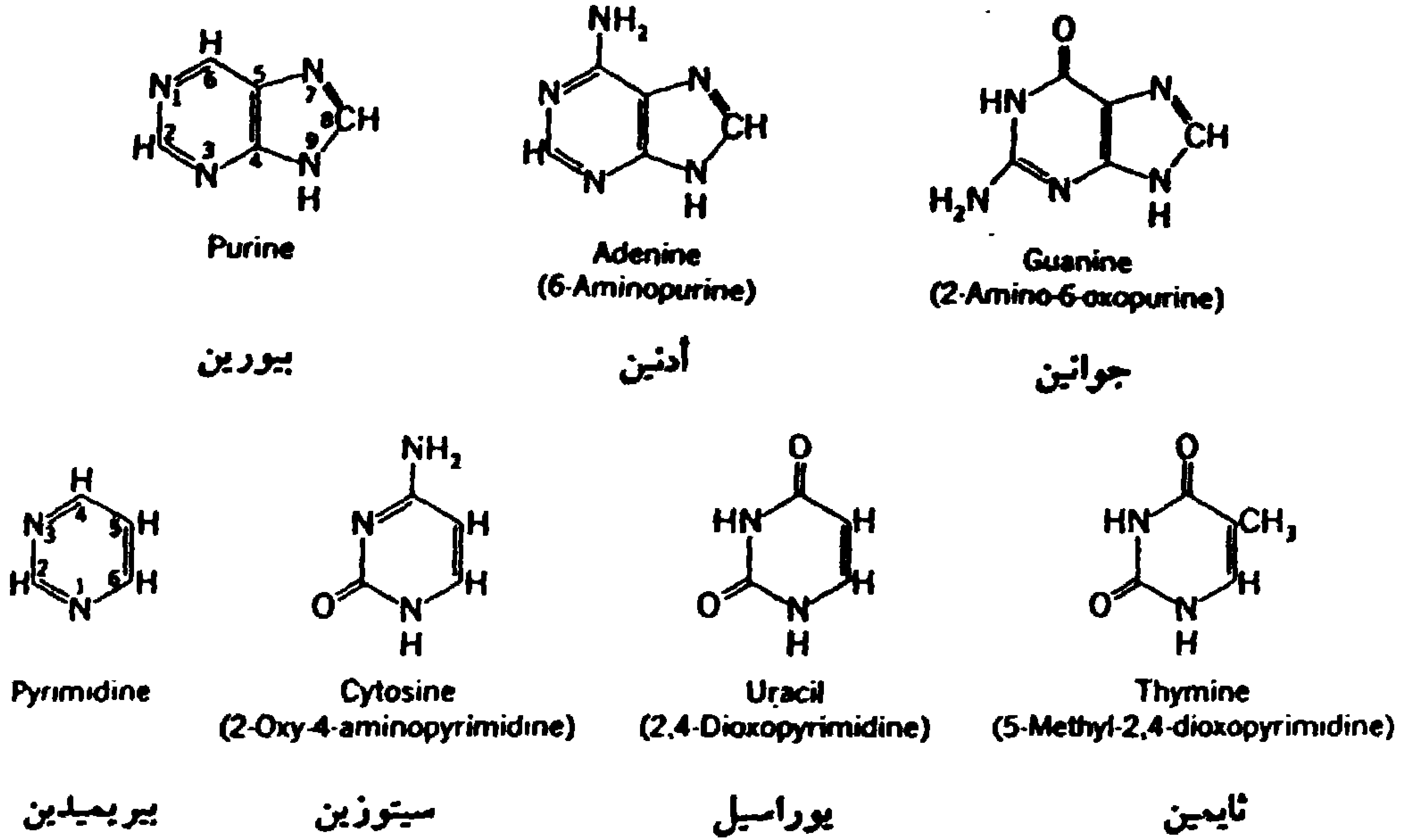


شكل ١٤ـ٣أ : التركيب البنائي لسلسلة عديدات الريبونيوكليوتيدات لتوضيح الرابطةثنائية الاستربين جزيئات سكر الريبوز بواسطــــة مجموعات الفوسفات. وكذلك توضيح الرابطة بين جزئيات سكر الريبوز والقواعد النيتروجينية آدنين ـ سيتوزين ـ جوانين ـ يوارسيل .



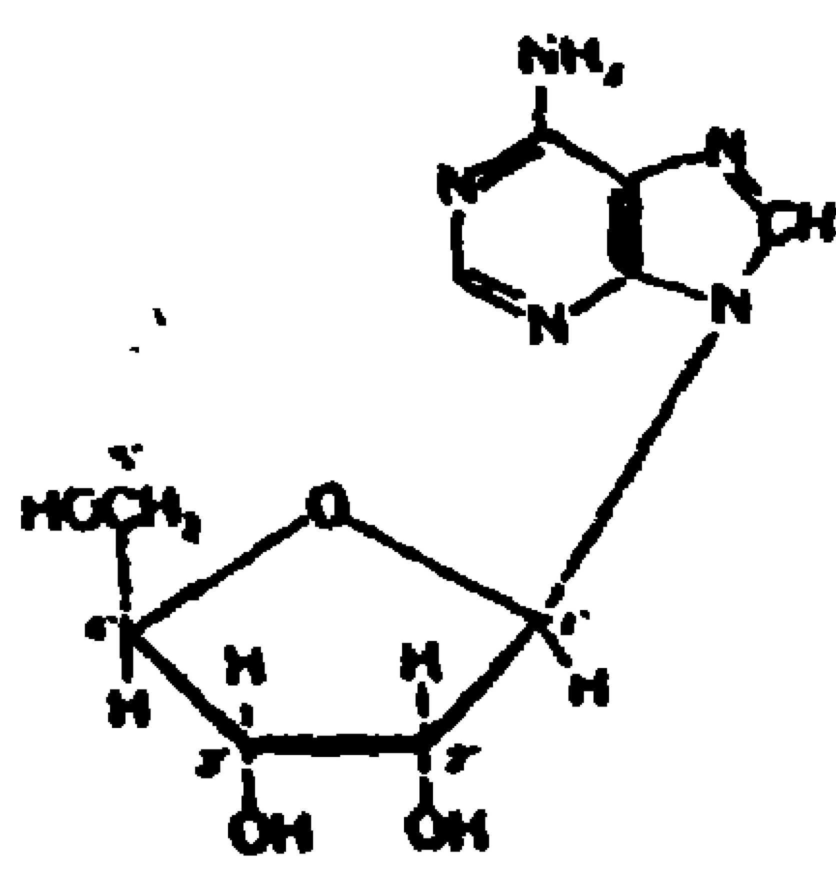
شكل ١٤ ـ ٣ ب : التركيب البنائي لسلسلة عديدات الدى أوكس ريبونيو ـ كليوتيدات٠ لتوضيح الرابطة ثنائية الاستر بين جزيئات سكر الدى أوكس ريبوز بواسطة مجموعات الفوسفات وكذلك توضيح الرابطة بين جزئيات سكر الدى أوكس ريبوز والقواعد النيتروجينية آدنين ـ ستيوزين ـ جوانين ـ ثيمين ٠

ناتجة من اتحاد احد جزئيات القواعد النيتروجينية (بيورين أوبريميدين)
شكل ١٤ـ٣ مع جزئ سكر (بيتاريبوز أو بيتادى ـ أوكس ـ ريبـوز)

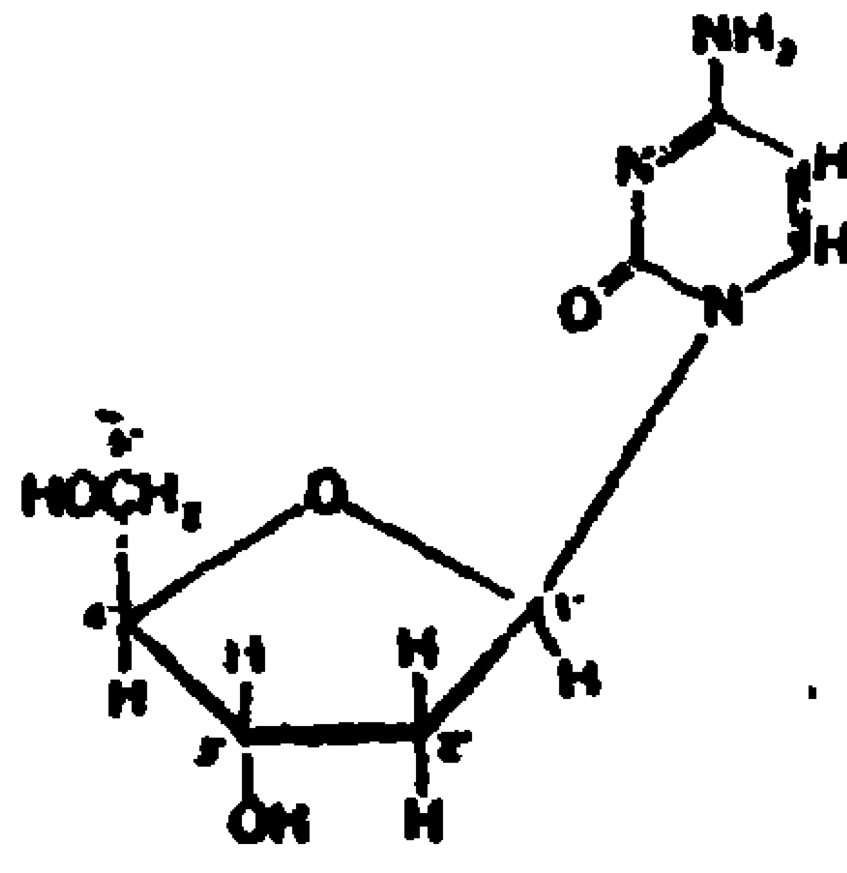


شكل ١٤ـ٤ : التركيب البنائى لقواعد البيورين والبريميدين الشائعة فى الأحماض النووية ٠

بواسطة رابطة جليكو سيدية (بيتا) ٠ وفيها تتصل القاعدة النيتروجينية مع مجموعة هيدروكسيل على ذرة الكربون الأولى للسكر ٠ ومكان اتصال القاعدة النيتروجينية بالسكر هو ذرة النيتروجين رقم ٩ فى البيورينات (أدنين وجوانين) كما فى الشكل (١٤ـ٥) بينما فى البريميدين فمكان الاتصال مع السكر هو ذرة النيتروجين رقم ١ كما فى الشكل (١٤ـ٥) ٠ والجدول (١٤ـ١) يوضح أسماء البيورينات والبريميدنات الشائعة فى الأحماض النووية والنيوكليوسيدات والنيوكليوتيدات المشتقة منها ، وكما هو واضح من ذلك الجدول فان النيوكليوسيدات والنيوكليوتيدات تسمى تبعا للقاعدة النيتروجينية الموجودة بها ٠



ادينوسين



دى أوكس سيتدين

شكل ١٤ـ٥ : التركيب البنائى للأدينوسين والدى أوكس سيتدين يوضح الرابطة بين السكر والقاعدة النيتروجينية ٠

جدول ١٤ـ١ : أسماء النيوكليوسيدات التى لها علاقة بالأحماض النووية

القاعدة الآزوتية	الرايبونيوكليوسيد	الديوكسى رايبونيوكليوسيد
ادنين	ادينوزين	ديوكسى ادينوزين
جوانين	جوانوزين	ديوكسى جوانوزين
يوراسيل	يوريدين	ديوكسى يوريدين (ليس لها وجود بالحمض النووى د ن أ DNA
سايتوزين	سايتيدين	ديوكسى سايتيدين
ثايمين	ثايمين رايبونيو ـ كليوسيد ٠ (ليس لها وجود بالحمض النووى ر ن أ RNA)	ديوكسى ثايميدين

وهناك عدة قواعد للتسمية نلخصها فيما يلى :

(أ) اسم النيوكليوسيدات يشتق من اسم القاعدة النيتروجينية مع الانتهاء بالمقطع (ـ يدين) فى حالة البريميدين الا فى حالة الثيمين ، وبالمقطع (ـ وزين) فى حالة قاعد البيورين ٠

(٢) اسم النيوكليوتيدات يمكن تسميتها بأكثر من طريقة ، فهى تسمى :

أ ـ كحمض وفى هذه الحالة يشتق من اسم النيوكليوسيد مع الانتهاء بالمقطع (ـ يلك) فيقال حمض سيتديلك أو حمض دى أوكس سيتديلك على حسب نوع السكر الموجود مع ضرورة توضيح مكان ارتباط مجموعة الفوسفات : هل هى على الذرة رقم ٣ أو الذرة رقم ٥ لجزىء السكر ، فيقال ٥/ حمض سيتيديلك أو ٣/ حمض سيتيديلك .

ب ـ كاستر فوسفاتى للنيوكليوسيد مع ضرورة توضيح مكان مجموعة الفوسفات أيضا فيقال ٥/ ـ سيتيدين أحادى الفوسفات أو سيتيدين ٥/ فوسفات ، ويحتوى كلا النوعين من الأحماض النووية د ن أ ، ر ن أ على القاعدتين النيتروجينيتين من البيورين وهما الآدنين والجوانين . كما أن كلا الحمضين يحتوى على القاعدة النيتروجينية ستيوزين ، ولكن قاعدة البريميدين الثانية فيهما مختلفة ، فالحمض النووى ر ن أ يحتوى على قاعدة اليوراسيل ، أما الحمض النووى د ن أ فانه يحتوى على قاعدة الثايمين . والجدول (١٤ـ٢) يوضح القواعد النيتروجينية فى كلا الحمضين النوويين :

جدول ١٤ـ٢ القواعد النيتروجينية فى الأحماض النووية :

د ن أ DNA	ر ن أ RNA
أدنين A	أدنين A
جوانين G	جوانين G
ستيوزين C	ستيوزين C
ثايمين T	يوراسيل U

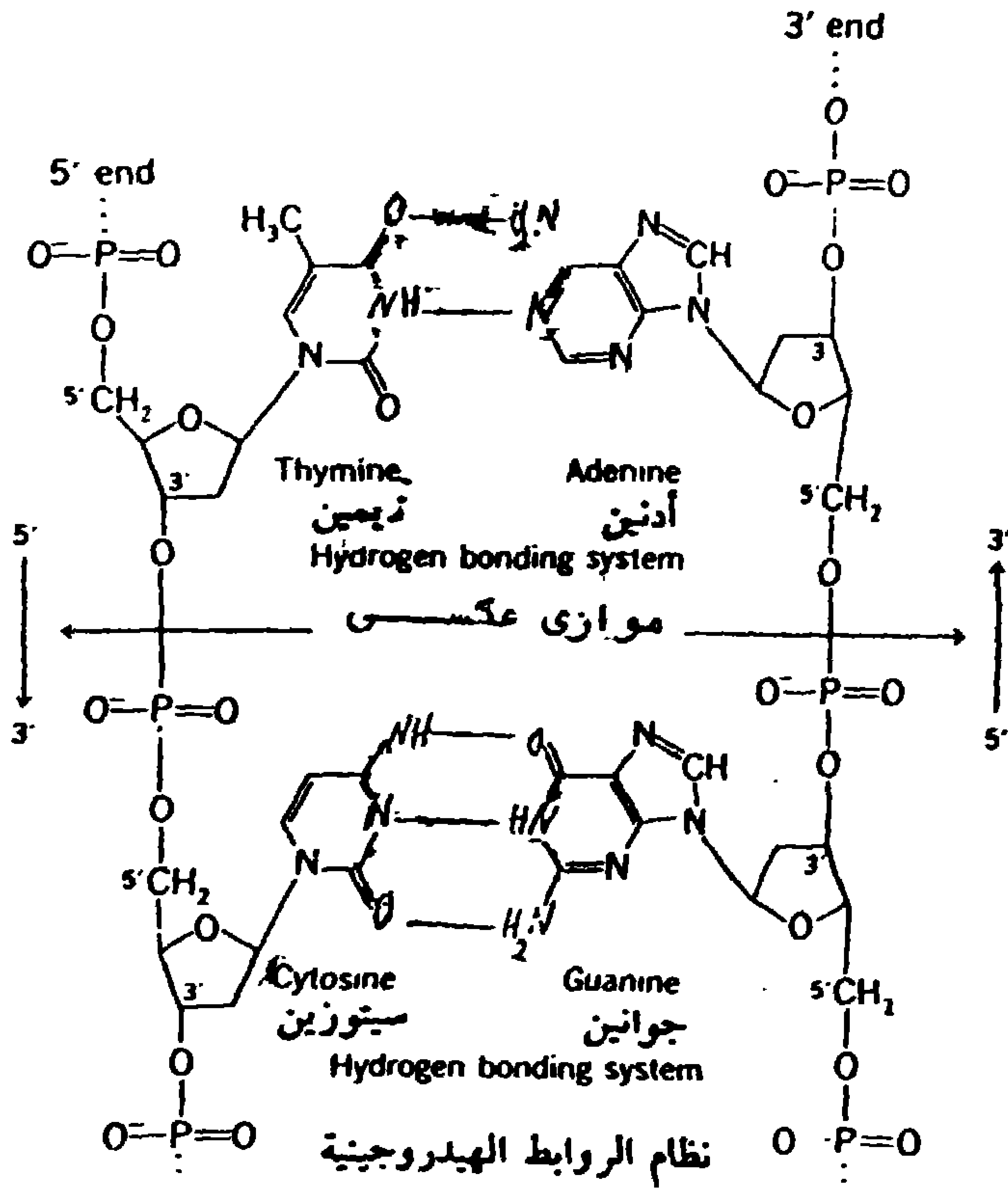
أنواع الأحماض النووية

ويوجد في الطبيعة أنواع مختلفة من كل من الأحماض النووية د ن أ ، ر ن أ :

(١) الحمض النووى د ن أ المزدوج (الثنائى) والمفرد (الأحادى) السلسلة

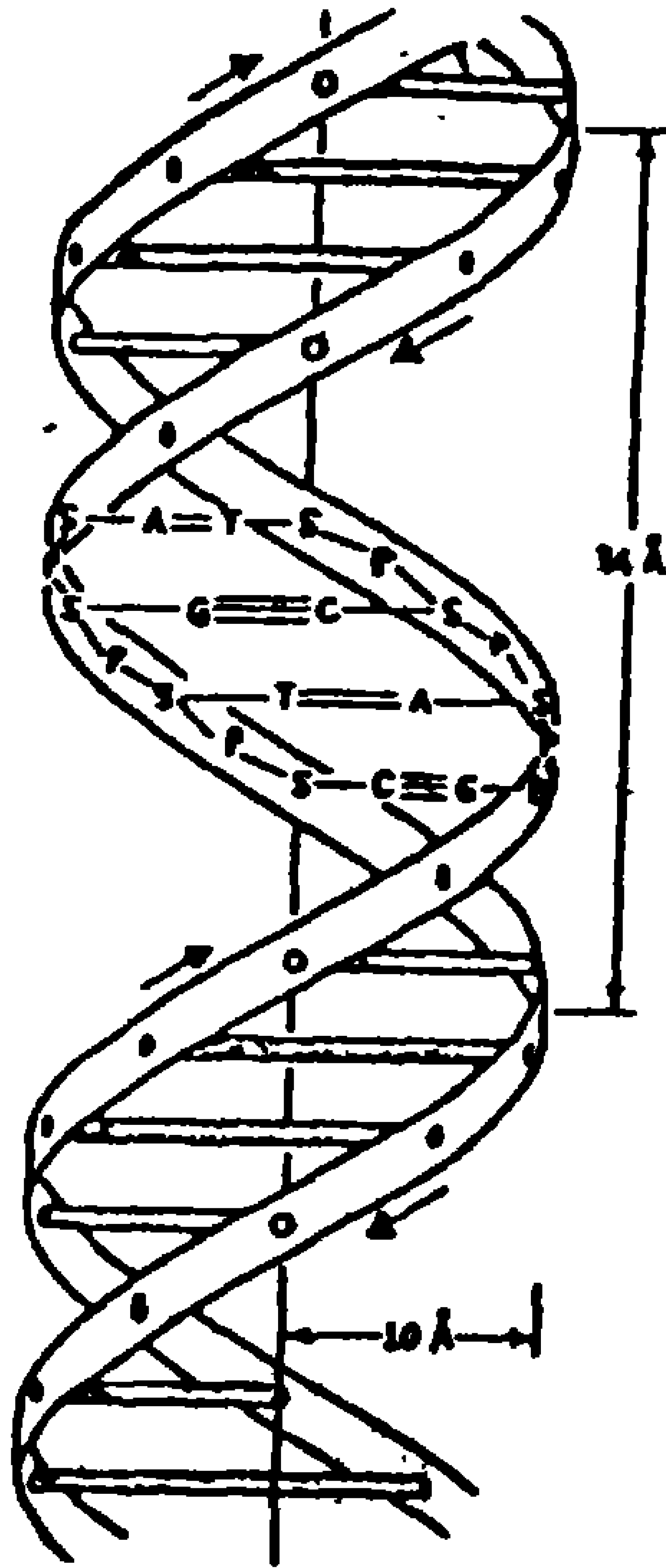
الحمض النووى د ن أ علاوة على وجوده في الفيروسات (د ن أ فيروسى فانه أيضا موجود في أنوية الخلايا ، كما يوجد في الميتوكوندريا ، وفى البلاستيدات الخضراء .

ويوجد الحمض النووى د ن أ عادة على هيئة سلسلتين متوازيتين متحدتين معا لتكوين سلسلة مزدوجة Double-Stranded ، ولكن يكون اتجاه احدى السلسلتين معاكسا لاتجاه السلسلة الأخرى وفى اتجاه موازلها Anti-parallel (شكل ١٤-٦) ، وتلتف هذه السلسلة

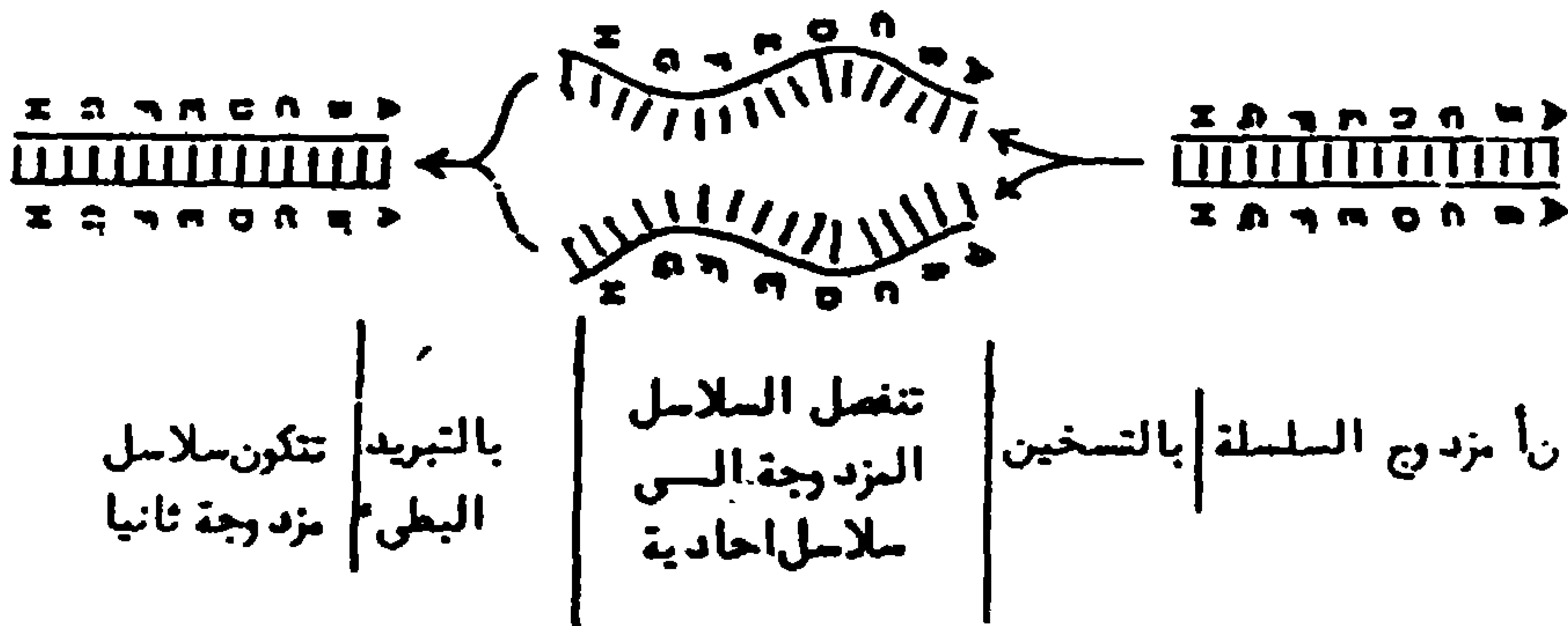


شكل ١٤-٦ : ازدواج السلاسل المتعاكسة بالحمض النووى د ن أ DNA نتيجة للروابط الهيدروجينية بين القواعد النيتروجينية

حول نفسها فى شكل حلزونى helical لذلك تسمى التركيب الحلزونى المزدوج Double hilex (شكل ١٤ـ٧) وهذا التركيب الحلزونى مرتبط معا بروابط هيدروجينية بين قواعد البيورين والبريميدين كما هو واضح فى الشكل (١٤ـ٧) حيث توجد رابطة ثلاثية بين الجوانبين والستيوزين (G≡≡≡≡C) ورابطة ثنائية بين الأدنين والثايمين (A====T) . ويمكن فك هذه الروابط بالتسخين (شكل ١٤ـ٨) .

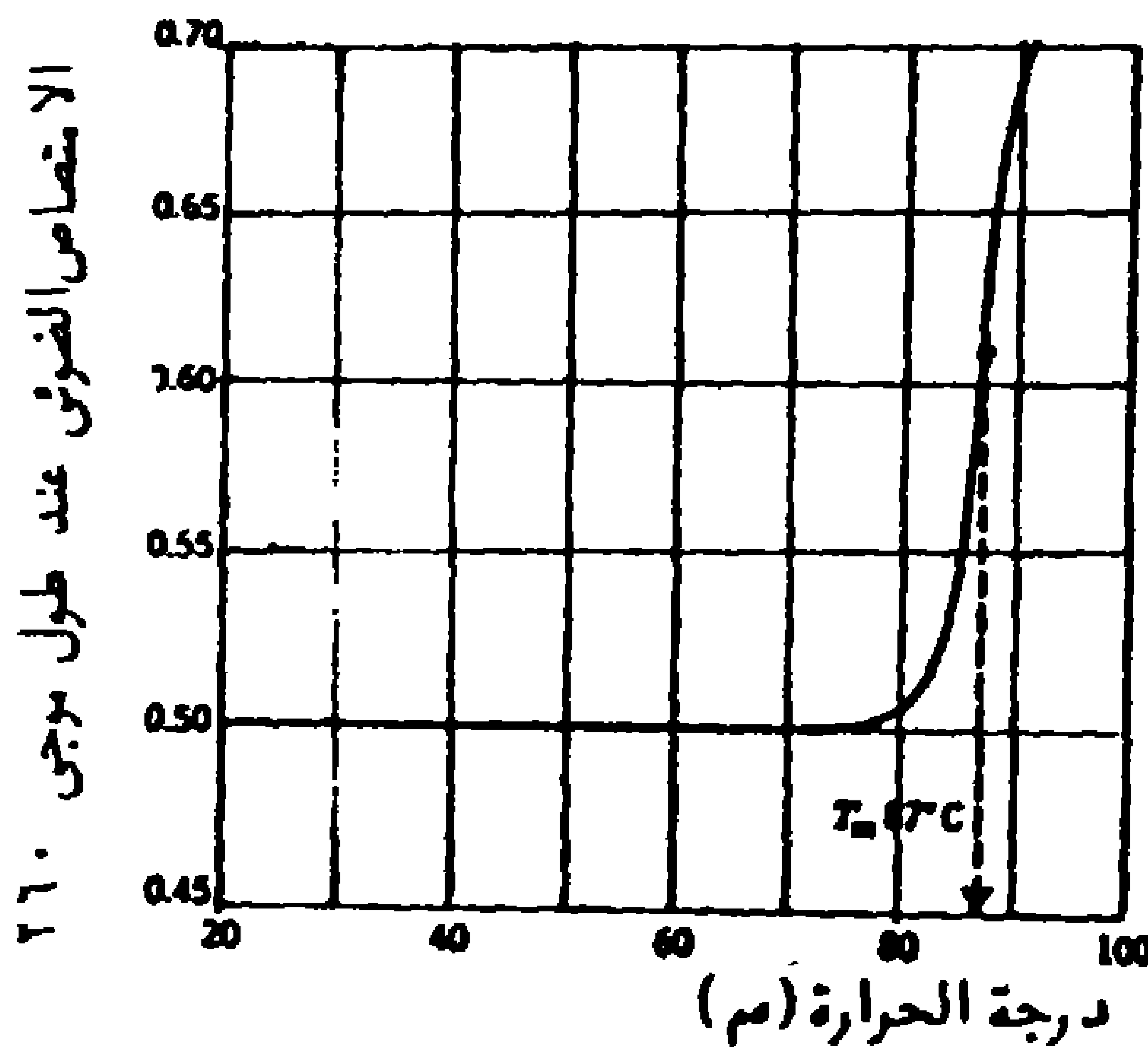


شكل ١٤ـ٧ : الشكل الحلزونى أو السلسلتين للحمض النووى .
P تعنى الفوسفات ثنائى الاستر
S تعنى دي أوكسى ريبوز ،
A=T تعنى زوج ادنين مع الثايمين .
G≡C تعنى زوج جوانين مع سيتوزين .



شكل ١٤ـ٨ : تأثير الحرارة على دنا مزدوج السلسلة

ولكن فك الروابط الهيد روجينية الثلاثية يقتضي درجات حرارة أعلى من المطلوبة لفك الروابط الزوجية . لذلك فكلما ، زادت نسبة الجوانين — سيتوزين في الحمض النووى كلما احتاج لدرجة حرارة أعلى لفصل السلسلتين عن بعضهما . وتعرف درجة الحرارة التى يتم عندها انفصال السلسلتين بدرجة الانصهار melting temperature يرمز لها بالرمز Tm . والحمض النووى د ن أ لكل كائن له درجة انصهار خاصة به وفقا لنسبة كل قاعدة من القواعد فى تركيبه . وتميز درجة الانصهار للحمض النووى د ن أ بواسطة الزيادة الملحوظة فى الامتصاص الضوئى للأشعة فوق البنفسجية عند ضوء ذو طول موجى قدره ٢٦٠ نانوميتر (شكل ١٤ـ٩) .



شكل ١٤ـ٩ : منحنى يوضح تأثير الحرارة على امتصاص الحمض النووى د ن أ للأشعة فوق البنفسجية عند طول موجى ٢٦٠ — نانوميتر . ويلاحظ زيادة الامتصاص الضوئى بزيادة الحرارة ويشير السهم الى درجة الانصهار للحمض النووى .

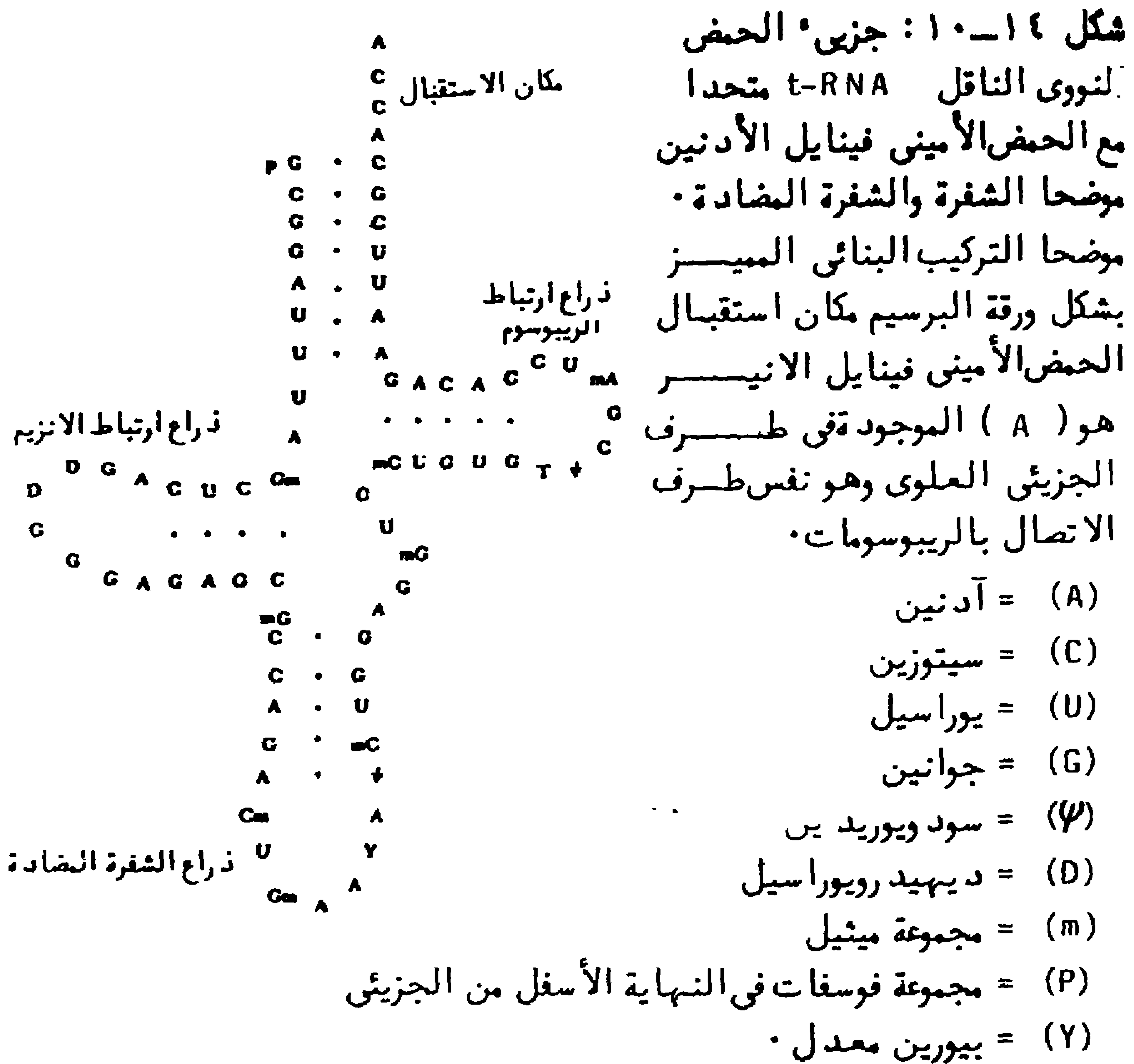
وعند اعادة تبريد محلول السلاسل المنفصلة — تبريدا بطيئا — فانه يعاد تكوين التركيب الحلزونى المزدوج Double hilex ... وتسمى هذه العملية Annealing ويمكن تمييز هذه العملية بانخفاض ملحوظ فى امتصاص الأشعة فوق البنفسجية عند طول موجى قدره ٢٦٠ نانوميتر ، ويمكن معرفة مدى صلة كائن ما بكائن آخر عن طريق امكانية تكوين سلاسل مزدوجة من سلاسل مفردة مأخوذة من الكائنين بعد وضع علامات مميزة خاصة على كل منهما .

كما أن ترتيب القواعد النيتروجينية الأربعة فى الحمض النـــووى د ن أ يشكل الشفرة الوراثية لجميع الكائنات بما فى ذلك الفيروسات ، التى يتم تضاعفها بدقة متناهية عند انفصال السلسلتين ، وتكوين السلسلـــة المكملة لكل منهما لينتج فى النهاية ٢ جزيء د ن أ حلزونى مزدوج يحتويان على ترتيب مماثل للقواعد النيتروجينية فى د ن أ الأصلــى (الأبـــــوى Parental) .

(٢) الحمض النووى ر ن أ

أ ـ ر ن أ حامل شفرة أو مرسال : وسيرمز له بالرمز (م ـ ر ن أ) m-RNA ... وهو ذلك الحمض الذى ينسخ المعلومات من جزئيات د ن أ ، وهو عبارة عن سلسلة مستقيمة مفردة تترتب فيه القواعـــــــــد النيتروجينية بنظام معين تحكمت فيه التعليمات الجينيـــــــة الموجودة على جزئيات د ن أ .

ب ـ ر ن أ ناقل أو ذائب : وسيرمز له بالرمز ت ـ ر ن أ (t-RNA) وأحيانا يرمز لهذا الحمض التووى بالرمز س ـ ر ن أ s-RNA وهذا الحمض النووى يوجد منه حوالى ستون نوعا فى الخلايـــا ، وكل نوع (أو عدة أنواع) من هذه الأحماض النووية يختــص بحمل ونقل حمض أمينى معين . ومثل هذا النوع أو الأنواع من ت ـ ر ن أ قادر على تمييز شفرة Codon مكونة من ثلاث قواعد نيتروجينية فى ترتيب خاص على جزئيات م ـ ر ن أ . ويتم تمييــز هذه الشفرة بواسطة ترتيب قواعد على جزيء ت ـ ر ن أ مكمل لترتيب قواعد الشفرة ، والترتيب الثلاثى المكمل الموجود على جزئيات ت ـ ر ن أ يسمى الشفرة المضادة Anti codon وهى عبارة عن الثلاثة نيوكليوتيدات (فى ترتيب خاص) اللازمـــة لوضع حمض نووى ناقل معين فى مكان معين على الشفرة الخاصة على جزيء م ـ ر ن أ خلال تكوين البروتين حيويا أثناء عمليـــة ترجمة المعلومات التى يحملها م ـ ر ن أ . والأحماض النوويـــة الناقلة ت ـ ر ن أ تكون عادة على شكل ورقة البرسيم (شكـــل ١٤ـ١٠) .



شكل ١٤ـ١٠ : جزيء الحمض لنووى الناقل t-RNA متحدا مع الحمض الأمينى فينايل الأدنين موضحا الشفرة والشفرة المضادة ٠ موضحا التركيب البنائى المميز بشكل ورقة البرسيم مكان استقبال الحمض الأمينى فينايل الانيــر هو (A) الموجودة فى طرف الجزيئى العلوى وهو نفس طرف الاتصال بالريبوسومات٠

(A) = آدنين
(C) = سيتوزين
(U) = يوراسيل
(G) = جوانين
(ψ) = سود ويوريد ين
(D) = د يهيد رويوراسيل
(m) = مجموعة ميثيل
(P) = مجموعة فوسفات فى النهاية الأسفل من الجزيئى
(Y) = بيورين معدل ٠

Quigley & Rich 1976, Science 194,796

جـ ـ رنأ ريبوسومى : وسيرمز له بالرمز ر ـ رنأ r-RNA فى كل من ريبوسومات الخلايا بدائية النواه وحقيقية النواه ٠ وهذه الأحماض النووية كلها أحادية السلسلة ، وان كان لها تركيب حلزونى فى بعض الأماكن ناتج من طيات فى السلسلة الأحادية عديدة النيوكليوتيدات حيث تتكون الروابط الهيدروجينية فى أماكن هذه الطيات٠

د - رنأ - فيروس : تكون المادة الوراثية لكثير من الفيروسات عبارة عن الحمض النووى رنأ سواء أكانت جزيئات هذا الحمض النووى مفردة السلسلة أو مزدوجة السلسلة . وفى مثل هذه الحالة تعمل جزيئات رنأ كأساس template لبناء جزيئات جديدة ، وكذلك تعمل كحمض نووى مرسال م - رنأ m-RNA لترجمة المعلومات الى بروتينات فيروسية .

وهذه المجموعة من الفيروسات ذات أهمية خاصة نظرا لما تنفرد به من عمل حمض رنأ كمادة وراثية ، فلم يعرف فى جميع الكائنات ذات التركيب الخلوى أن يعمل الحمض النووى رنأ كمادة وراثية .

أهمية الأحماض النووية

جميع الكائنات الحية ذات التركيب الخلوى وكذلك العديد من الفيروسات تكون المعلومات الوراثية فيها محفوظة على السلاسل المزدوجة لجزئيات د نأ . وتمثل جزئيات د نأ المزدوجة السلاسل المكون الأساسى فى الأنوية للكائنات ذات النواة الحقيقية Eucaryotes أو المكون الوحيد فى النواة للأحياء ذات النواة البدائية Procaryotes ، أما الفيريونات فان المعلومات الوراثية فيها قد تكون موجودة على أيا من الحمضين النوويين د نأ أو رنأ سواء كان جزيء الحمض النووى مزدوج أو مفرد السلسلة . وان كانت معظم الفيريونات تحتوى على الحمض النووى د نأ المزدوج السلسلة أو الحمض النووى رنأ المفرد السلسلة ، وهذه هى الصورة الشائعة لكلا الحمضين النوويين فى الأحياء ذات التركيب الخلوى ، والقلة من الفيريونات تحتوى على الحمض النووى د نأ مفرد السلسلة أو الحمض النووى رنأ مزدوج السلسلة . فمثلا يحتوى الفيروس الدقيق للفأر minute virus of mice وفاج بكتيريا القولون أف . دى coliphage Fd وفاج بكتيريا القولون فاى اكس

١٧٤ Coliphage ∅X 174 على جزئيات د ن أ مفرد السلسلة . بينما تحتوى قلة من الفيروسات فى طورها الخارجى (الفيريونات) على الحمض النووى رن أ مزدوج السلسلة مثل فيروسات ريو Reoviruses وبعض الفيروسات النباتية الأخرى .

وتتراوح نسبة الأحماض النووية nucleic acids فى جزيىء الفريون من ١٪ كما فى فيروس الانفلونزا influenza virus الى أكثر من ٥٠٪ كما فى بعض الفيروسات البكتيرية (جدول ١٤ـ٣) . وعند

جدول ١٤ـ٣ : التركيب الكيميائى التقريبى لبعض الفيروسات .

الفيـــــروس	نسبة الأحماض النووية رنا ٪	نسبة الأحماض النووية دنا ٪	نسبة البروتين ٪	نسبة الدهن ٪	نسبة الكربوهيدرات ٪	مكونات الدهن
فيروسات أدنيو طراز ٢ ، ٤		١٣	٨٧			
فيروس موزايك البرسيم الحجازى	١٩		٨١			
فيروس Avian myloblastosis	٢		٦٢	٣٥	١	فوسفوليبيدات
فيروس Broad bean mottle	٢٢		٧٨			
فيروس Broad bean true mosaic	٣٥		٦٥			
فيروس Brome mosaic	٢١		٧٩			
فيروس Carnation latent	٦		٩٤			
فيروس موزايك التنبغ		١٦	٨٤			
فاجات f1, fd, M13, f2, fr, M12		١٢	٨٨			
فاجات MS2, R17, QB	٣٠		٧٠			
فاجات ∅ X 174, ∅ R, S13		٢٦	٧٤			
فاجات تى ذات الأرقام المزدوجة		٥٥	٤٠		٥	
فيروس موزايك اللوبيا Cowpea mosaic	٣٣		٦٧			
موزايك الخيار Cucumber mosaic	١٨		٨٢			
فيروس Encephalomyocarditis	٣٠		٧٠			
فيروس Equine abortion		٩	+	+		
فيروس Equine encephalomyelitis	٤		٤٢	٥٤		فوسفوليبيدات دهون متعادلة كوليسترول
فيروس مرض القدم والفم FMDV	٣١		٦٩			
فيروس Fowl plague	٢		٦٨	٢٥	+	فوسفوليبيدات وكوليسترول
فيروس Fowl pox.		٢	٧١	٢٧		.. .. ودهون متعادلة

تابع جدول ١٤ــ٣ : التركيب الكيميائى التقريبى لبعض الفيروسات.

الفيروس	نسبة الأحماض النووية رن أ %	نسبة الأحماض النووية دن أ %	البروتين %	الدهون %	الكربوهيدرات %	مكونات الدهن
فيروس Herpes simplex		٩	٦٧	٢٢	٢	فوسفوليبيدات
فيروس الانفلونزا	١		٧٤	١٩	٦	،، ،، وكوليسترول ودهون أخرى
فيروس Mouse encephalitis (ME)	٣١		٦٩			
فيروس مرض النيوكاسل	١		٧٣	٢٠	٦	فوسفوليبيدات ودهون أخرى
فيروس Pea enation mosaic	٢٩		٧١			
فيروس شلل الأطفال Poliomylitis	٢٦		٧٤			
فيروس Polyoma		١٦	٨٤			
فيروس أكس البطاطس PXV	٦		٩٤			
فاج PM2 الذى يصيب Pseudomonas		١٤	٧٦	١٠		فوسفو ليبيدات
فيروس الكلب Rabies	٤		٩٦			
فيروس Rous sarcoma	٢		٦٢	٢٥	١	فوسفوليبيدات دهون أخرى
Silkworm cytoplasmic polyhedrosis	٢٣		٧٧			
فيروس Shope papiloma		١٨	٨٢			
Silkworm cytoplasmic polyhedrosis	٢٣		٧٧			
فيروس سندبيس Sindbis	٩		٤٧	٤٤	----	فوسفوليبيدات وكوليسترول
Southern bean mosaic	٢١		٧٩			
فيروس SV5 (Simian parainfluenza)	١		٧٣	٢٠	٦	فوسفوليبيدات ودهون أخرى
فيروس SV40 (Simian papova)		١٣	٨٧			
،، Tipula iridescent		١٣	٨٢	*		فوسفوليبيدات
فيروس موزايك الدخان TMV	٥		٩٥			
فيروس تنكرز الدخان TNV	٢٠		٨٠			
فيروس خشخشة الدخان Tobacco rattle	٥		٩٥			
فيروس التبقع الحلقى فى الدخان TRSV	٤٠		٦٠			
فيروس Tomato bushy stunt	١٧		٨٣			
فيروس Tomato spotted wilt	٥		٧١	١٩	*	غيرمعروف
فيروس الموزايك الأصفر فى اللفت TYMV	٣٤		٦٦			
فيروس فاكسينيا Vaccinia		*	٩١	٤		فوسفوليبيدات وكوليسترول ودهون أخرى
فيروس موزايك الخيار البرى WCMV	٣٥		٦٥			
فيروس ريو طراز ٣ Reo Type 3	٢١		٧٩			

* تعنى أنه أمكن الكشف عن وجود كمية من ذلك المكون ولكن الكمية لم يتم تقديرها بدقة بعد.

استخلاص الحمض النووى من فيريونات فيروس معين تحت ظروف تقلل من تقطع سلاسل الحمض النووى فاننا نحصل على نسخة واحدة من الحمض النووى من كل فيريون (فيما عدا بعض فيروسات الحمض النووى الريبوزى RNA الكبيرة) ٠

ويختلف طول هذه السلاسل النووية فى الأنواع المختلفة من الفيريونات وان كانت ثابتة للفيريونات من نفس النوع ٠ ويتراوح طول هذه السلاسل النووية من عدة آلاف قليلة من النيكليوتيدات أو أزواج النيكليوتيدات فى فيروسات معينة الى حوالى ٣٠٠٫٠٠٠ نيكليوتيدات أو أزواج نيكليوتيدات فى فيروسات أخرى ٠ واذا اعتبرنا أن متوسط طول الجين gene هو حوالى ١٠٠٠ نيكليوتيدات فانه يمكن حساب عدد البروتينات التى يستطيع كل فيروس بنائها ، وأصغر الفيروسات المعروفة عليه معلومات تكفى لبناء ثلاث بروتينات فقط ، بينما تكفى المعلومات الموجودة على الحمض النووى لبعض الفيروسات لبناء عدة مئات من البروتينات ، ورغم كبر حجم المادة الوراثية لتلك الفيروسات الأخيرة الا أنها لا تستطيع أن تحيا مستقلة دون التطفل على خلايا حية ٠ ويؤدى اختلاف حجم المادة الوراثية على هذا الوجه الى اختلاف عدد البروتينات الفيروسية التى تتكون داخل الخلية العائل بعد غزوها بفيروس معين ٠

واذا قورنت الفيروسات عامة بالخلايا ، فانه يمكن اعتبارها احادية المجموعة الصبغية (الكروموسومية) haploid نظرا لاحتوائها على نسخة واحدة من الحمض النووى - باستثناء فيروسات رترو Retroviruses .

وفيروسات رترو Retroviruses (وهى من فيروسات الحمض النووى الريبوزى مفرد وموجب السلسلة) تتميز عن باقى الفيروسات بكونها ثنائية المجموعة الصبغية (الكروموسومية) diploid ، وذلك لاحتواء الفيريون على نسختين من الحمض النووى الريبوزى المفرد الموجب السلسلة ٠ وكلا النسختين متشابهتين فى ترتيب القواعد النيتروجينية ، وترتبط النسختين قرب النهاية المعروفة باسم 5' end بواسطة روابط

هيد روجينية ، وتنفصل النسختان عن بعضهما بسهولة بالتسخين .

خواص الأحماض النووية في مجموعات الفيروسات الأربع الأساسية :

(١) فيروسات د ن أ مزدوج السلسلة : ds DNA viruses

يوضح الجدول (١٤-٤) الوزن الجزيئي للحمض النووى د ن أ الفيروسى مقاسا بطرق مختلفة . تتفاوت نسبة كل من القواعد النيتروجينية في الفيروسات المختلفة ، بل أن بعض الفيروسات تحتوى على قواعد نيتروجينية غير عادية ، فعلى سبيل المثال نجد أن الحمض النووى د ن أ DNA المزدوج السلسلة الموجود في مجموعة فيروسات بكتيريا القولون والمعروفة باسم الفيروسات البكتيرية تى ذات الأرقام الزوجية T even phages يحتوى على القواعد النيتروجينية المعروفة باسم ٥ - هيد روكسى ميثيل سيتوزين 5-hydroxy methyl cytosine(HMC) بدلا من قواعد السيتوزين العادية ... وقد أتاح اكتشاف هذه الحقيقة امكانية دراسة تضاعف الأحماض النووية الفيروسية بمعزل عن تضاعف الأحماض النووية الخلوية للخلية العائل ، كما أن اكتشاف هذه القاعدة النيتروجينية غير العادية (٥ - هيد روكسى ميثيل سيتوزين) والتى لا توجد في الأحماض النووية للخلية العائل أزاح الستار عن أنه يتكون في الخلايا التى تم غزوها بالفيروسات المذكورة مجموعة جديدة من الأنزيمات كانت غير موجودة أساسا في الخلية العائل .

كما تم الكشف بعد ذلك عن أن مركب ٥ - هيد روكسى ميثيل يوراسيل 5-hydroxy methyl uracil يحل محل السيتوزين في بعض الفيروسات البكتيرية المتخصصة لبكتيريا Bacillus subtilis ، وتؤدى مثل هذه الاستبدالات في القواعد النيتروجينية الى تغيرات واضحة في خواص الأحماض النووية ، لذلك يسهل تمييز الأحماض النووية الفيروسية عن الأحماض النووية للخلايا العائل ، ولو أن كثيرا من فيروسات الحمض النووى د ن أ المزدوج السلسلة تحتوى على حمض نووى في صورة حلقية Circular الا أن بعض الفيريونات تحتوى على الحمض النووى في صورة مستقيمة

جدول ١٤ــ٤ : خواص الأحماض النووية الفيروسيـــة :

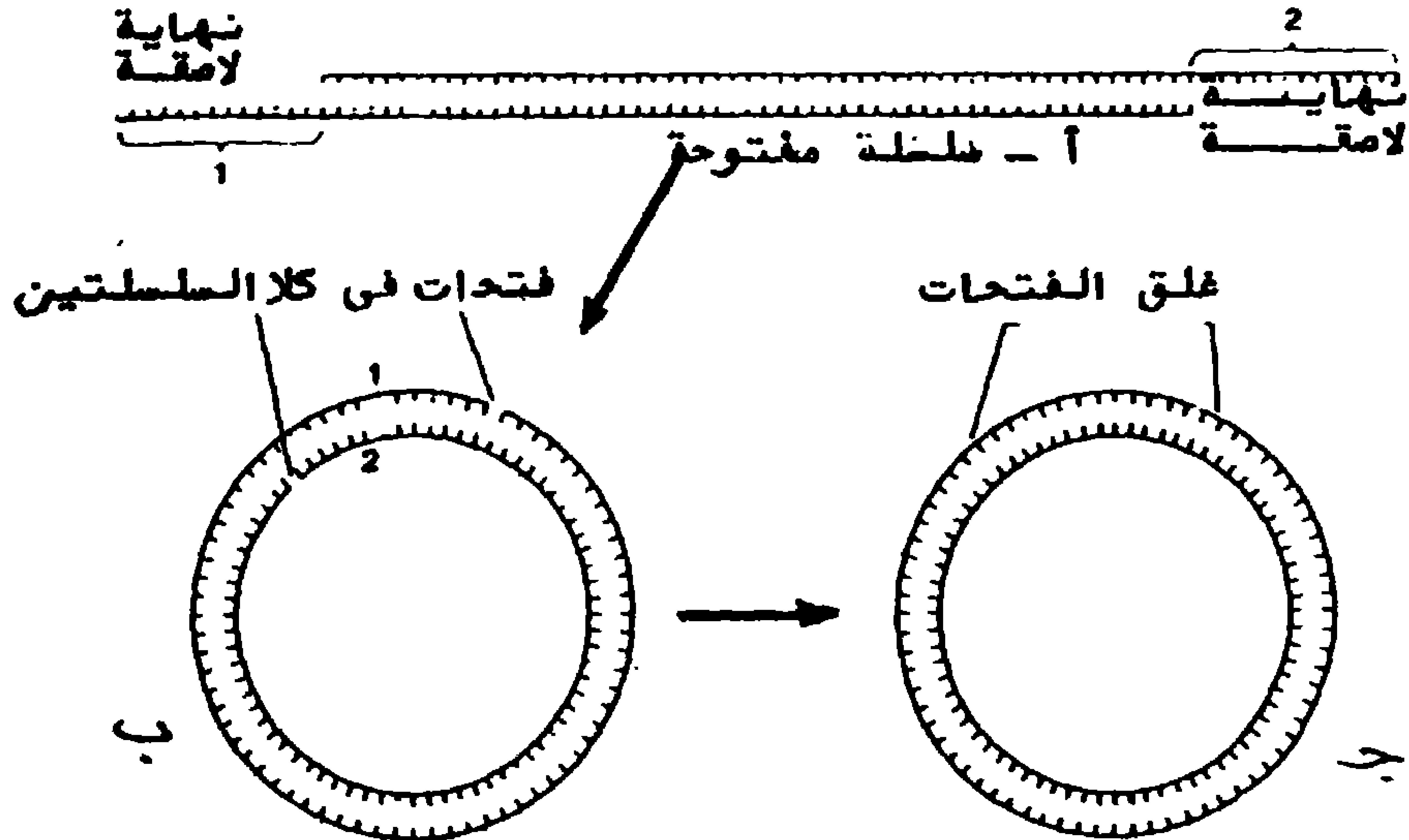
نوع الحمض النووي الفيروسي	الفيروسات الممثلة	الوزن الجزيئي ×١٠^٦ دالتون	عدد القواعد النتروجينية في السلسلة الأحاديـة ×١٠٠٠ القاعدة	عدد قطع الحمض النووي في الفيريون	الطبيعة الحمض النووي الفيروس
الحمض النووي دنا مزدوج السلسلة					
Hepatitis B حلقي		١ر٦	٥ر٢		
فيروسات Papova حلقي	بوليموما بابيلوما	٥ر٣	٥		
فاج MS2 حلقي بصيب Pseudomona		٦	٩		
فيروسات أدينو	طراز ١٨،١٢	٢١	٣٢		
	،، ٢ ، ٥	٢٣	٣٥		
فاجات تي ٣ ، تي ٧		٢٥	٣٨		
فاج لامدا (λ)		٣١	٤٧		
فاج تي ٥		٧٧	١١٧		
فيروس هربس	Herpes simplex	١٠٠	١٥١		
فاجات تي ذات الأرقام المزدوجة		١١٠	١٦٧		
فاج SP8 يصيب B.subtitis		١٣٠	١٩٧		
فيروسات الجدري Poxvirus	Vaccinia	١٦٠	٢٤٢		
الحمض النووي دنا أحادي السلسلة					
فيروسات بارفو Parvovirus		٥ر١	٥ر٤		
فاج فاي اكس ١٧٤ ØX174		١ر٧	٢ر٥		
الحمض النووي رنا مزدوج السلسلة					
فيروسات ريو Reovirus		١٥ *	٢٣	١٠	
فيروس تقزم الأرز Rice_dwarf virus		١٥ *	٢٣	١٠	
فيروس Cytoplasmic polyhedrosis		١٥ *	٢٣	١٠	
الحمض النووي رنا أحادي السلسلة					
Satellite necrosis virus		٤ر	١ر٢	١	
فاج R 17		١ر٣	٤	١	+
فيروس موزايك الدخان TMV		٢	٦	١	+
فيروس الموزايك الأصفر في اللفت TYM		٢	٦	١	+
فيروسات بيكورنا Picorna	شلل الأطفال	٥ر٢	٥ر٧	١	+
فيروس Bunyavirus		٣	٩	٣	−
فيروسات رشرو	Rous Sarcoma	٥ر٣	٥ر١٠	١	+

تابع جدول ١٤ ـ ٤ : خواص الأحماض النووية الفيروسيـــة :

نوع الحمض النووي الفيروسي	الفيروسات الممثلـــة	الوزن الجزيئي ×١٠^٩ دالتون	عدد القواعد النتروجينية في السلسلة الأحاديــة ×١٠٠٠ القاعدة	عدد قطع الحمض النووي في الفريون	التعفن الحمض النووي الفيروسي
فيروسات ألفا	السندبيس	٤	١٣	١	+
فيروسات رابدو	Vescular stomatitis	٤	١٣	١	−
فيروسات ميكسو (المخاطية)	فيروس الانفلونزا	٦ *	١٨	٨	−
فيروسات باراميكسو (شبيه المخاطية)	فيروس مرض النيوكاسل	٦	١٨	١	−

* علامة تعني أن تلك القيمة مأخوذة من الوزن الجزيئي لمجموع قطع الحمض النووي في الفيريون .

linear وهذه الأخيرة يمكنها التضاعف داخل خلية العائـــــــل بتحولها الى الصورة الحلقية من خلال النهايات اللاصقة Cohesive ends لجزيء الحمض النووى (شكل ١٤ ـ ١١) .



شكل ١٤ ـ ١١ : تحول المادة الوراثية فاج لامبدا من الصورة الحلقية عن طريق النهايات اللاصقة في جزيء الحمـــــض النووي .

أ ـ سلسلة مستقيمة واضح بها النهايات اللاصقة .

ب ـ التحول الى الصورة الحلقية مع وجود فتحات في كـــلا السلسلتين .

جـ ـ قفل الفتحات في كلا السلسلتين لتكوين جزيء حلقـــي مغلق .

(٢) فيروسات د نأ مفرد(أحادى)السلسلة : ss DNA viruses

تحتوى بعض الفيروسات البكتيرية (الفاج) الصغيرة (مثل فاج فاى أكس ١٧٤ - (Ø X 174) ذو الشكل " المتعدد الأوجة " ico-sahedron وكذلك فاج اف - ١ F1 وفاج ام ١٣ M13 ذات - الشكل الحلزونى helical وكذلك الفيروسات الحيوانية المعروفة باسم فيروسات بارفو Parvoviruses على حمض نووى د نأ مفرد السلسلة Single - stranded DNA وتحتوى جزيئات الفيروسات البكتيرية دائما على نسخ من نفس سلسلة الحمض النووى د نأ وتسمى هذه السلسلة باسم " السلسلة الفيروسية " Viral strand وهذا يعنى أن السلسلة الفيروسية التى تستخلص من جزئين فيروسين فى نفس النوع لا يكونا السلسلة الحلزونية المزدوجة Double-hilex للحمض النووى د نأ ، أو بمعنى آخر لا تكمل احداهما الأخرى .

وتختلف الفيروسات الحيوانية عن الفيروسات البكتيرية السابقة الذكر ، ففيريونات الفيروسات من نوع أدينو adeno-associated viruses تحتوى بعض جزئياتها على احدى السلسلتين ، وبعضها الآخر على السلسلة الأخرى ، وبذلك فان سلاسل الحمض النووى د نأ المفرد السلسلة Single - stranded viral DNA المستخلص من جزيئات فيريونات أدينو adeno-associated viruses تكمل بعضها الأخرى ، وعند تعريضها لظروف التحام annealing condition السلاسل ، فانه تتكون السلاسل الحلزونية المزدوجة double-hilex المعروفة للحمض النووى د نأ .

(٣) فيروسات رنأ مزدوجة السلسلة : ds RNA viruses

يتميز الحمض النووى رنأ المزدوج السلسلة بنقطة انصهار melting point حادة مميزة (نقطة انصهار الحمض النووى هى درجة الحرارة التى تنفصل عندها سلسلتى الحمض النووى ، وهى تختلف

من حمض نووى لآخر على حسب نسبة كل من القواعد النيتروجينية فى هذا الحمض ، فأزواج الأدنين والثيمين ترتبط برابطة ثنائية بينما أزواج الجوانين والسيتوزين ترتبط برابطة ثلاثية ، لذلك ... فكلما احتوى الحمض النووى على نسبة أعلى من الجوانين والسيتوزين كلما كانت نقطة الانصهار للحمض النووى منخفضة ، والعكس بالعكس ـ كما ذكر آنفا) .

كما أن الحمض النووى رن أ المزدوج السلسلة يتميز بمقاومته لفعل الأنزيمات المحللة للحمض رن أ (RNase) Ribonuclease .

ومن أمثلة الفيروسات الحيوانية التى تحتوى على حمض نووى رن أ مزدوج السلسلة فيروسات الريو Reoviruses التى تصيب الانسان وحيوانات أخرى ، وفيروس البولى هيدروسس السيتوبلازمى Cytoplasmic polyhedrosis viruses الخاص بديدان (الحرير) القز .

ومن أمثلة الفيروسات النباتية فى هذا النوع من الفيروسات وهى فيروسات أورام الجروح Wound tumor viruses وفيروس تقزم الأرز Rice dwarf viruses وتتميز هذه الفيروسات كلها بالقدرة على تجزأ المادة الوراثية genome segmentation . ففيروسات الريو Reovirus الكاملة تحتوى على عشرة أجزاء أو أكثر لا تماثل بعضها البعض فى ترتيب القواعد النيتروجينية ، ويصل عدد هذه القواعد فى كل سلسلة الى حوالى ٢١٠٠٠ قاعدة نيتروجينية . ولا تتجزأ هذه الأحماض النووية الكاملة بطريقة عشوائية ، ولكنها عادة تتجزأ فى أماكن محددة يمكن تمييزها بطرق خاصة . كما أن أجزاء الأحماض النووية فى بعض الفيريونات يمكنها الالتحام بأجزاء أخرى بروابط غير متكافئة noncovalent bonds بواسطة قطع صغيرة من small stretches من أزواج القواعد Base-pairs . والأجزاء المختلفة من هذه الأحماض النووية الريبوزية تحمل المعلومات الوراثية لبناء البروتينات الفيروسية المختلفة وتنقل هذه المعلومات بواسطة الحمض النووى م ـ رن أ m-RNA لكى تترجم بواسطة ريبوسومات الخلية الى بروتينات .

(٤) فيروسات رنأ مفرد (أحادى) السلسلة ss RNA Viruses

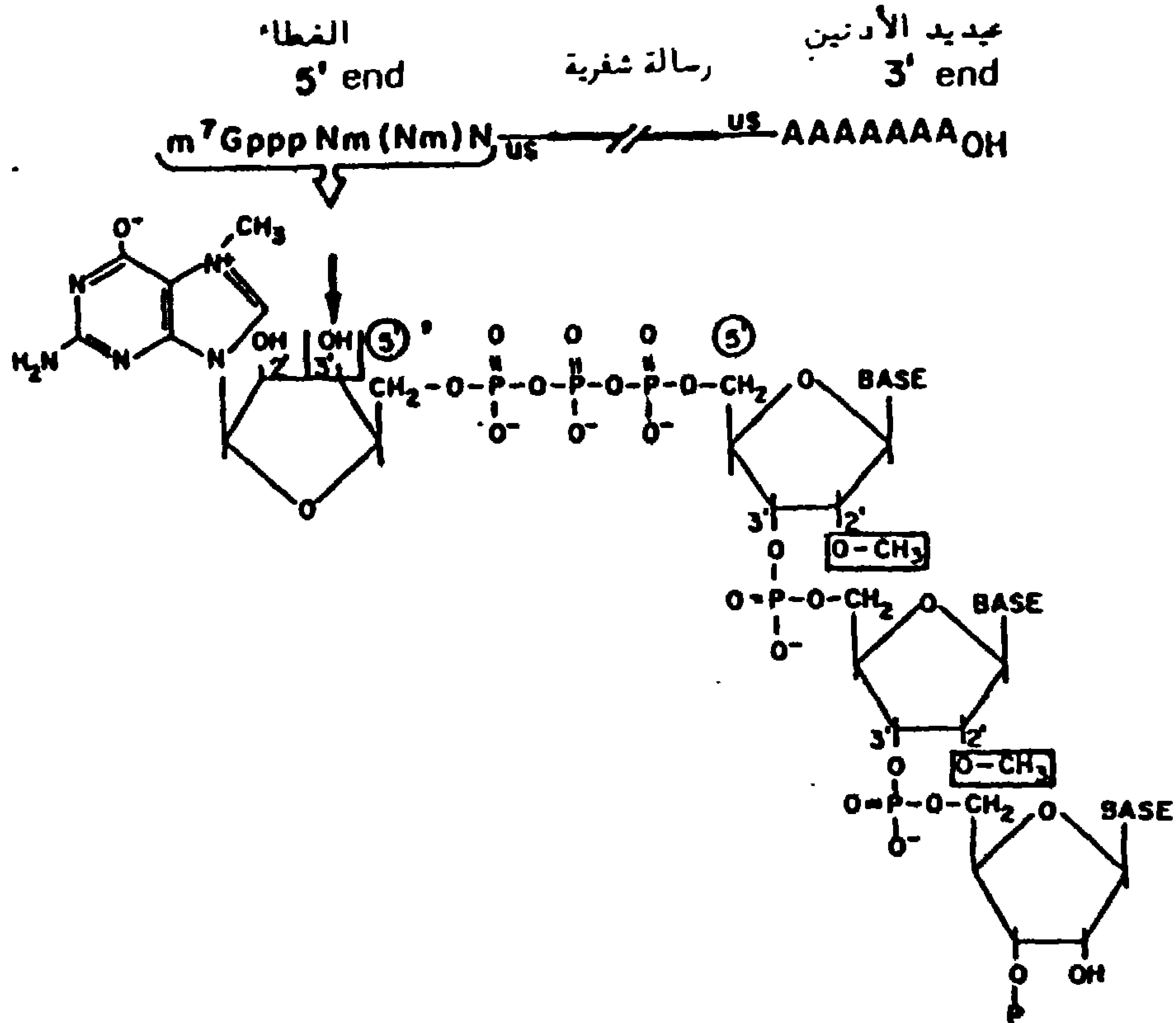
تحتوى الكثير من الفيريونات سواء الحلزونية helical أو متعددة الأوجه Icosahedral على حمض نووى ريبوزى مفرد السلسلة ذو عدد من القواعد النيتروجينية يتراوح بين ألف الى سبعة عشر ألف قاعـــدة نيتروجينية • وقد تظل المادة الوراثية هذه فى قطعة واحدة أو تتجـــزأ الى اجزاء ذات أطوال مختلفة • وتنقسم الفيروسات التى تحتوى فيروناتها علــى الحمض النووى الريبوزى المفرد السلسلة الى قسمين أساسين هما:

أ ـ الفيروسات التى تحتوى على السلسلة الموجبة :

Positive-strand RNA viruses

المقصود بالسلسلة الموجبة هى سلسلة الحمض النووى الريبـــوزى التى تعمل كما لو كانت حمض نووى ريبوزى مرسال (m-RNA) بمعنى أن الحمض النووى الفيروسى نفسه يتم ترجمة المعلومات الموجودة عليـــه مباشرة بواسطة الريبوسومات الخلوية • ومعظم فيروسات الحمض النـــووى الريبوزى مفرد السلسلة هى من هذا النوع، أى تحمل السلسلة الموجبـة فى الفيريونات • ويشبه التركيب البنائى الثانوى Secondary structure لهذه الأحماض النووية الفيروسية التركيب البنائى الثانوى للأحماض النوويـة رنأ مرسال m-RNA (شكل ١٤ـ١٢) فى الخلايا العائل ، فيوجد عـدة قواعد نيتروجينية من نوع الأدنين Poly(A) sequence عند النهاية المميـزة بمجموعة فوسفات على ذرة الكربون رقم ٣ فى جزيىء الريبوز (3` end ) بينما النهاية الأخرى المميزة مجموعة الفوسفات على ذرة الكربون رقـــم ٥ لسكر الريبوز ( 5` end) يوجد عندها غطاء Cap محددا نهايـــة الرسالة الشفرية • والغطاء يتكون من واحد أو اثنتين من النيكليوتيـدات (Nm) ذات جزيىء الريبوز الذى يحمل مجموعة ميثيل على ذرة الكربون رقم ٢ (كما فى المستطيلات الموضحة فى (الشكل ١٤ـ١٢) ولذلـــك تكون هذه النهاية (5` end) متميزة بوجود مجموعة هيدروكسيل (OH^-) على ذرة الكربون رقم ٣ فى سكر الريبوز • وهذا يجعل مثل هذا الحمـض النووى الريبوزى المفرد السلسلة مقاوم لفعل الانزيمات النووية التـــى

تحلل الأحماض النووية مبتدئة من ناحية 5' end وتسمى 5' Exonu-cleases ويشذ عن هذه القاعدة الحمض النووى رنأ المفرد السلسلة لفيروسات البيكورنا Picornavirus حيث لا يوجد غطاء عند النهاية المسماة 5' end ويحل محل الغطاء ترتيب خاص من القواعد النيتروجينية يرتبط ببروتين صغير بروابط متكافئة Covalent وقد يعمل هذا



شكل ١٤-١٢ : رسم توضيحى للتركيب البنائى الثانوى رنأ الفيروس المفرد السلسلة الموجب والذى يتميز بوجود الرسالة الشفرية بين تركيبات ثانوية خاصة (US) تجعله مقاوما للتحلل بالأنزيمات الخلوية المحللة للأحماض النووية . فعند نهاية 3' end ينتهى الجزىء بعديد من نيوكليوتيدات الأدنين ، أما عند نهاية 5' end فيوجد واحد أو اثنين من النيوكليوتيدات ذات جزىء الريبوز الذى يحمل مجموعة ميثيل على ذرة الكربون رقم ٢ .

معدلا عن Adams and Cory Nature 255: 28 , 1975

البروتين كنواة لبدء تكوين البروتيـــن primer عند هذه النهايــة لجزيء الحمض النووى رن أ RNA .

أما الفيروسات النباتية ذات الحمض النووى - الريبوزى المفــرد والموجب السلسلة ، المحتوية على غطاء cap عند (5' end) ولكنهـا لا تحتوى على قواعد الأدنين المتعددة Poly(A) sequence في النهاية الأخرى (3' end) فبدلا من ذلك فان هذه النهاية (3' end) تشبه تلك الخاصة بالحمض النووى الريبوزى الناقل ت - رن أ t-RNA والذى يمكن تحميله بحمض أمينى معين بواسطة انزيـم Amino-acyl-t-RNA synthetase وهذه التشابهات بين الحمض النووى رن أ المفــرد السلسلة والأحماض النووية رن أ الخلوية يؤيد وجود علاقة بين فيروســات الأحماض النووية رن أ والأحماض النووية رن أ الخلوية .

وقد سبق أن أشرنا أن فيروسات رترو Retroviruses - وهى من فيروسات الحمض النووى رن أ مفرد وموجب السلسلة - تتميز بأنهــا ثنائية المجموعة الصبغية (الكروموسومية) diploid لاحتــواء فيريوناتها على نسختين من السلسلة الموجبة للحمض النووى رن أ الفيروسى مفرد السلسلة مرتبطتان ببعضهما قرب النهاية بروابط هيدروجينيــة ، ويسهل فصل السلسلتين من بعضهما بالتسخين .

(ب) الفيروسات التي تحتوى على السلسلة السالبة :

Negative-strand RNA viruses

المقصود بالسلسلة السالبة هو أنها السلسلة المكملة Complimentary strand للسلسلة الموجبة ولا تحمل شفرة وراثية ويبنى عليهـا السلسلة الموجبة قبل بناء البروتين الفيروسى . ولذلك فان السلسلــة السالبة لا يمكن أن تعمل كحمض نووى ريبوزى مرسال m-RNA والسلسلة السالبة لا تحتوى على غطاء Cap عند النهاية 5' end ولكنها تحتـوى بدلا من ذلك على نيكليوسيد ثلاثي الفوسفات nucleoside triphosphate.

(٥) الأحماض النووية الفيروسية المعيبة :

Defective nucleic acids

ان المخزون الفيروسي ـ سواء كانت الفيروسات تحتوى على أحماض نووية رن أ RNA أو أحماض نووية د ن أ DNA يحتوى عادة على فيريونات معيبة (ناقصة) لأحد الأسباب الآتية :

أ ـ قد تحتوى على جزء من المادة الوراثية الكاملة للفيريون الكامل ٠

ب ـ قد تحتوى على نفس كمية الحمض النووى ولكن عبارة عن أجزاء صغيرة مكررة من الحمض النووى الفيروسي (وعادة ما تحتوى معلومات التضاعف) ٠

جـ ـ قد تحتوى على حمض نووى مصدره الخلية العائل ، ومثل هذه الفيريونات المعيبة تكون عادة عاجزة عن احداث الاصابة ، ولكن تكون قادرة على مضاعفة حمضها النووى اذا حقنت في خلايا مصابة بفيريونات سليمة ، وفي هذه الحالة فان الفيريونات السليمة تعمل كمساعد helper لهذه الفيريونات المعيبة ، وقد تتضاعف هذه الفيريونات المعيبة بمعدل أسرع من الفيريونات السليمة المساعدة لأحد الأسباب الآتية :

(١) تكون الفيريونات المعيبة محتوية على عدة نسخ من الجينات المسئولة عن تضاعف الحمض النووى ٠

(٢) تؤدى بعض الفيريونات السليمة الى تحول الخلايا الى خلايا سرطانية ٠

(٣) تؤدى بعض الفيريونات المعيبة الى تثبيط تضاعف الفيريونات السليمة التى تغزو الخلايا في نفس الوقت ٠

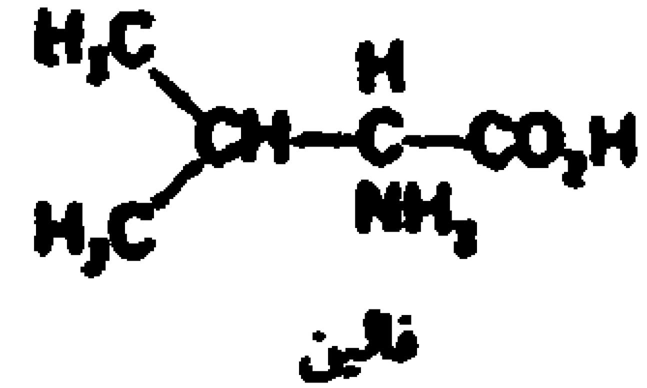
ثانيًا : الغطاء البروتيني أو المحفظة Protein Coat or Capsid

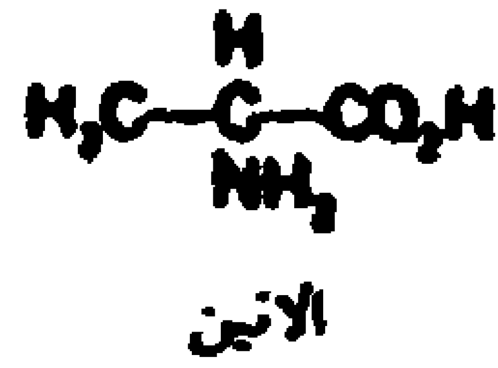
يشكل الغطاء البروتيني المعروف بالمحفظة Capsid معظم كتلة الفيريون ، وخاصة في الفيروسات الصغيرة ... والوظيفة الأساسية للمحفظة في الفيريونات المعراة Naked هي حماية الحمض النووى من الانزيمات المحللة للأحماض النووية الموجودة في السوائل الحيوية ، كما أن المحفظة تلعب دورا هاما في اتصال الفيروس بعائله .

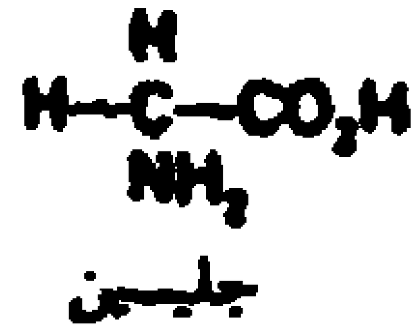
ونظرا لحجم الفيروسات المتناهي الصغر والذى يترتب عليه صغر حجم مادته الوراثية Genome size فان الفيروسات لا يمكنها أن تخصص إلا جزءًا محدودا من مجموع مادتها الوراثية (عددا محدودا من الجينات Genes) لبناء بروتينات المحفظة ، وعلى ذلك فان المحفظة لابد وأن تتكون - بالضرورة - من وحدات بروتينية متشابهة Identical Protein subunits والوحدات البروتينية التى تكون الغطاء البروتيني تسمى الكابسومرات Capsomers ومفردها كابسومر Capsomer.

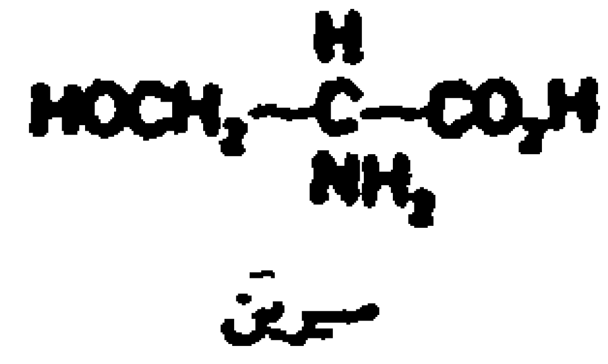
وربما يكون من المفيد هنا الاشارة الى أن البروتينات عبارة عن مركبات عضوية نيتروجينية ، وتوجد البروتينات في جميع الكائنات الحية ، فهى من المكونات الأساسية لبروتوبلازم الخلايا ، كما أنها توجد في كروموسومات الخلايا ذات الأنوية الحقيقية ... وللبروتينات أهمية حيوية كبيرة فى سائر الأحياء ، فمن البروتينات تتكون الانزيمات وهى تلك المواد المسئولة عن سائر التفاعلات الحيوية في سائر الأحياء . كما أن بعض البروتينات تعمل كهرمونات مثل الانسولين ، وقد أمكن معرفة التركيب البنائي لعدد من البروتينات . والوحدات البنائية لجزيئات البروتينات هي الأحماض الأمينية من نوع (α) الفا ، وتحتوى البروتينات المختلفة على حوالى عشرون حمضا أمينيا مختلفا (شكل ١,٤-١٣) ويختلف ترتيب هذه الأحماض الأمينية ونسبتها في البروتينات المختلفة ، وترتبط هذه الأحماض الأمينية ببعضها في سلسلة بواسطة روابط ببتيدية عن طريق اتحاد مجموعة الكربوكسيل في أحد الأحماض الأمينية بمجموعة الأمين في

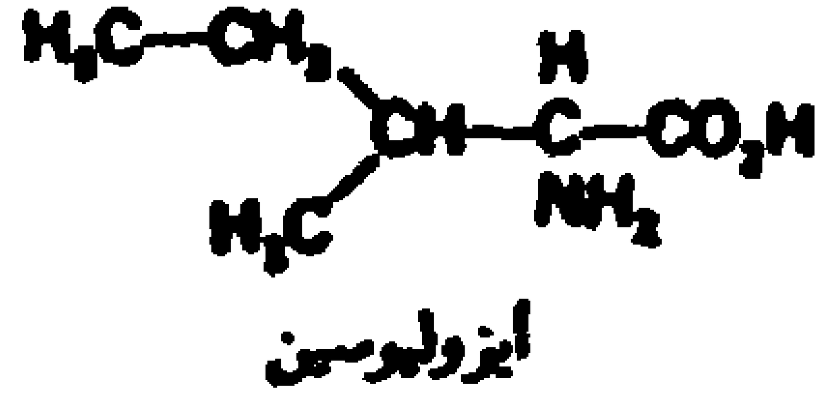
أحماض أمينية متعادلة :

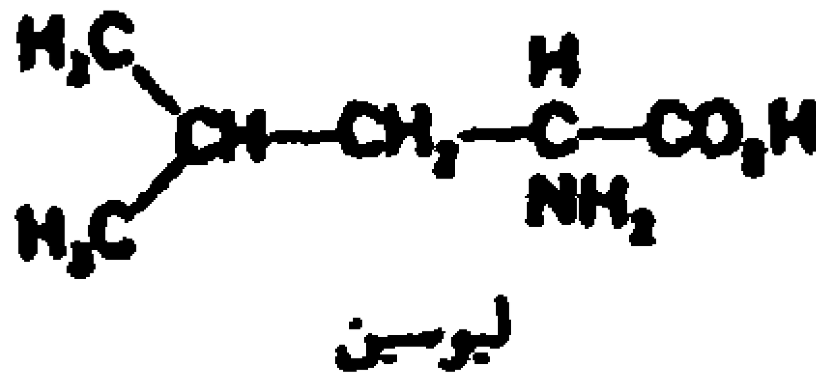


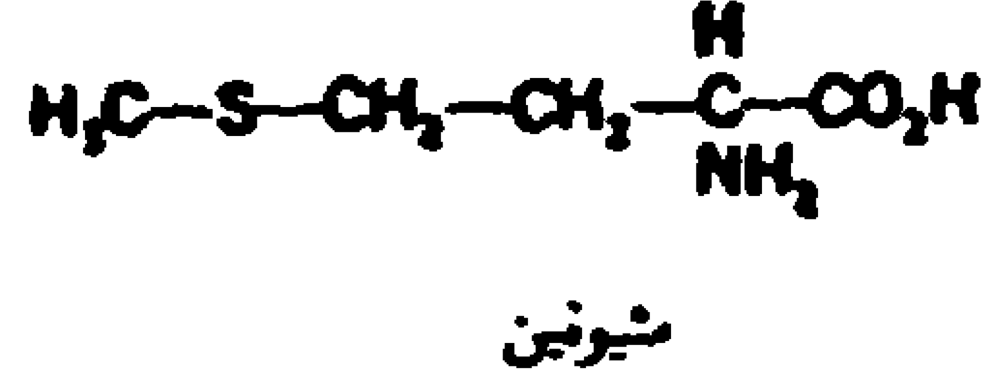


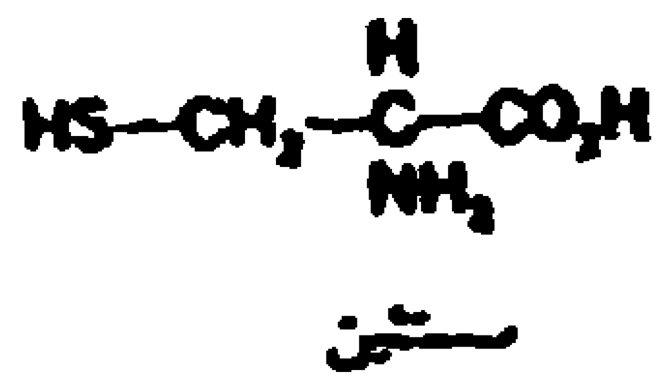


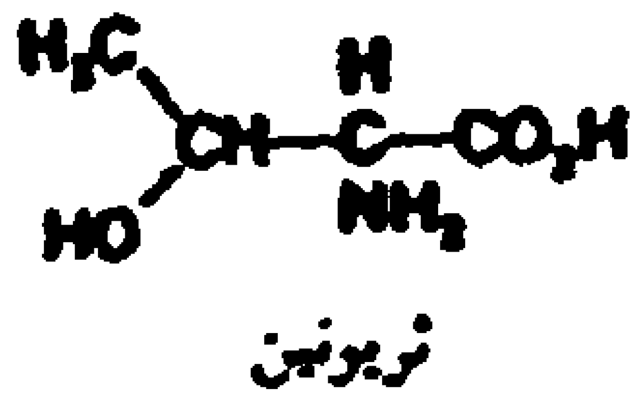


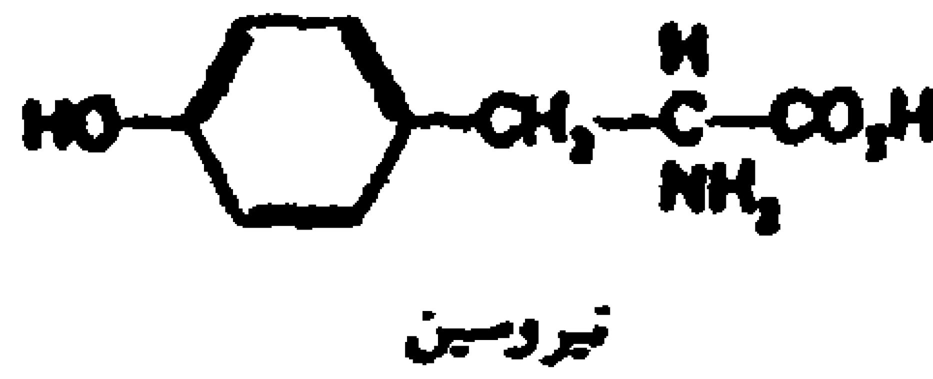


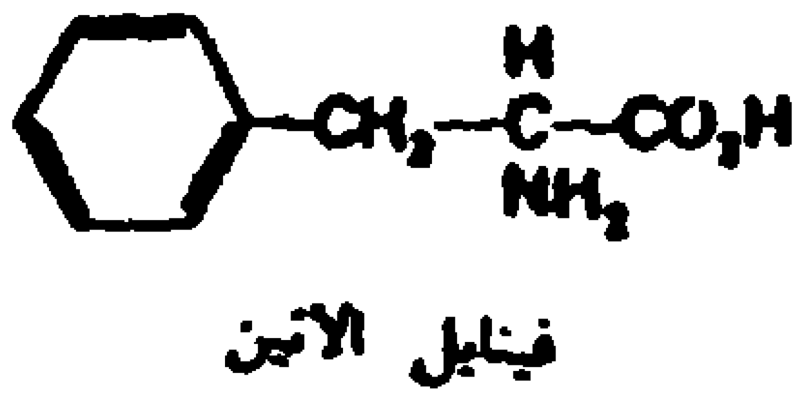


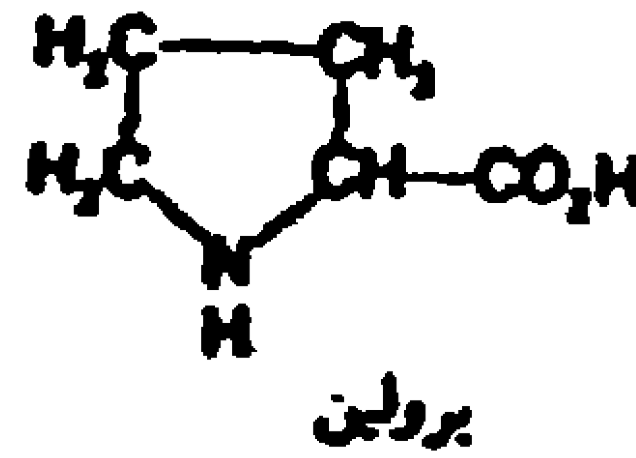


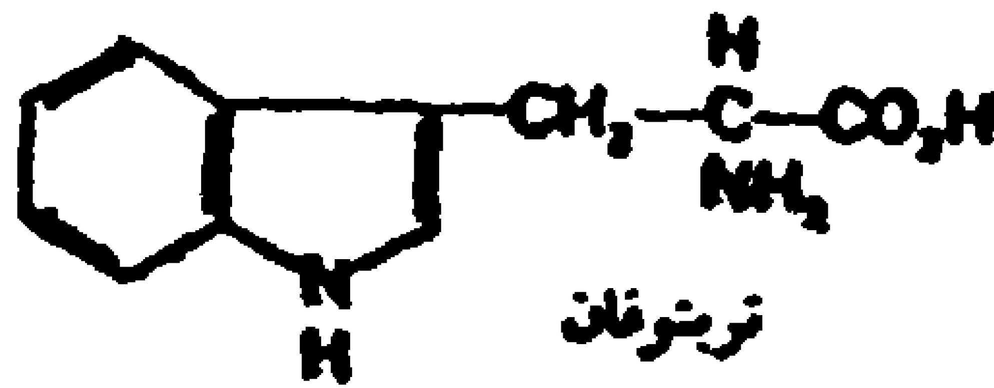




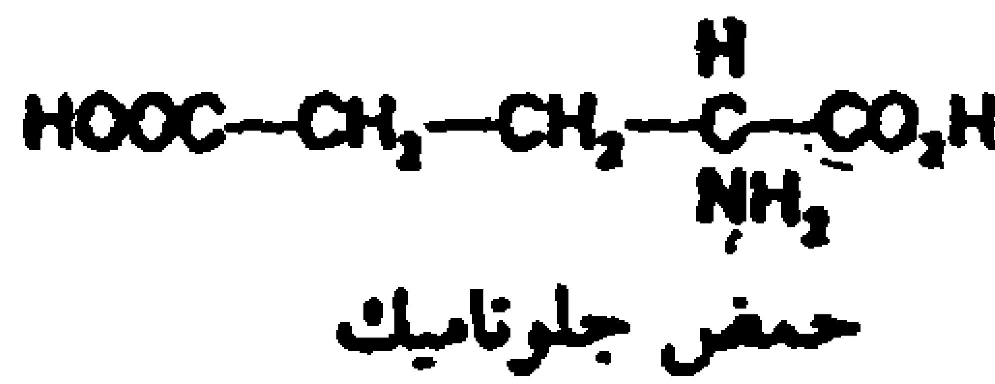


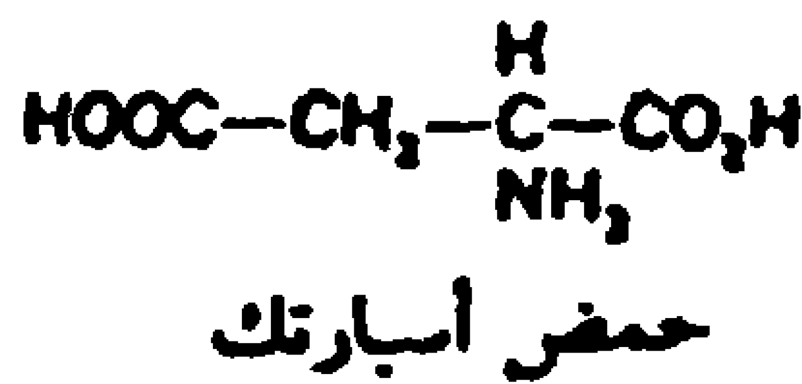




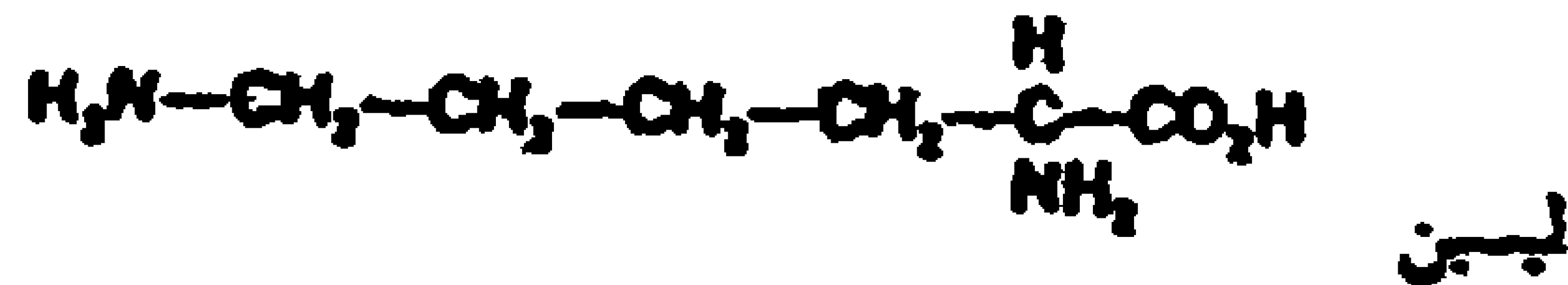


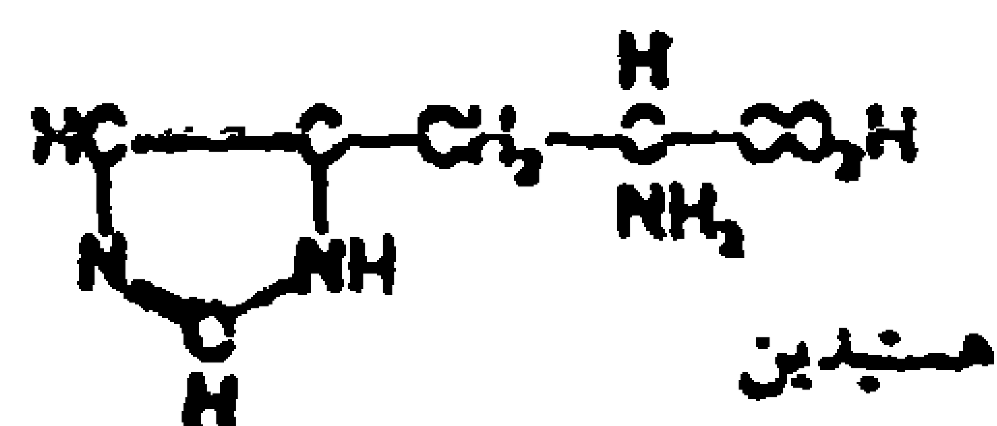
أحماض أمينية حمضية :

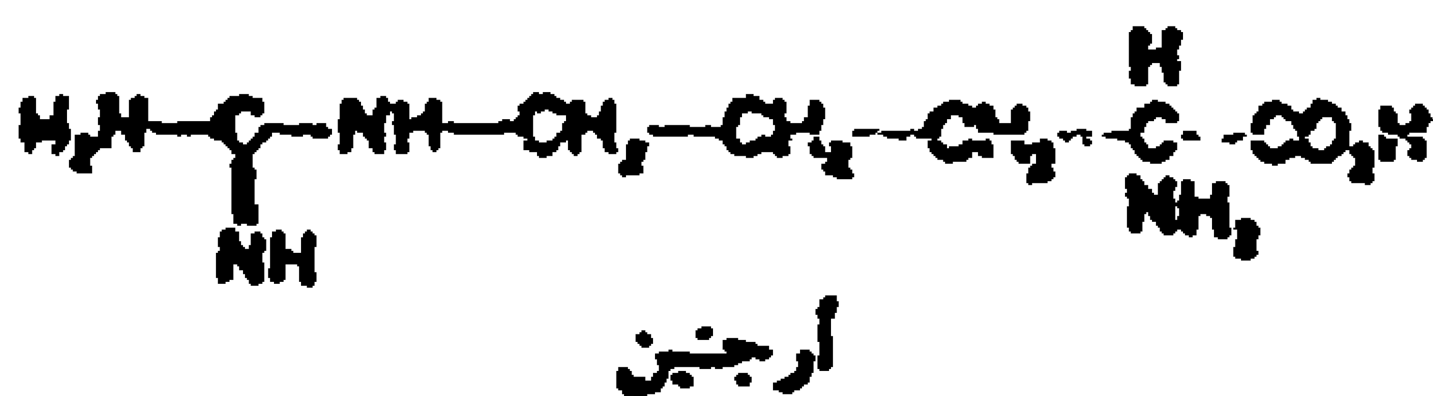




أحماض أمينية قاعدية :

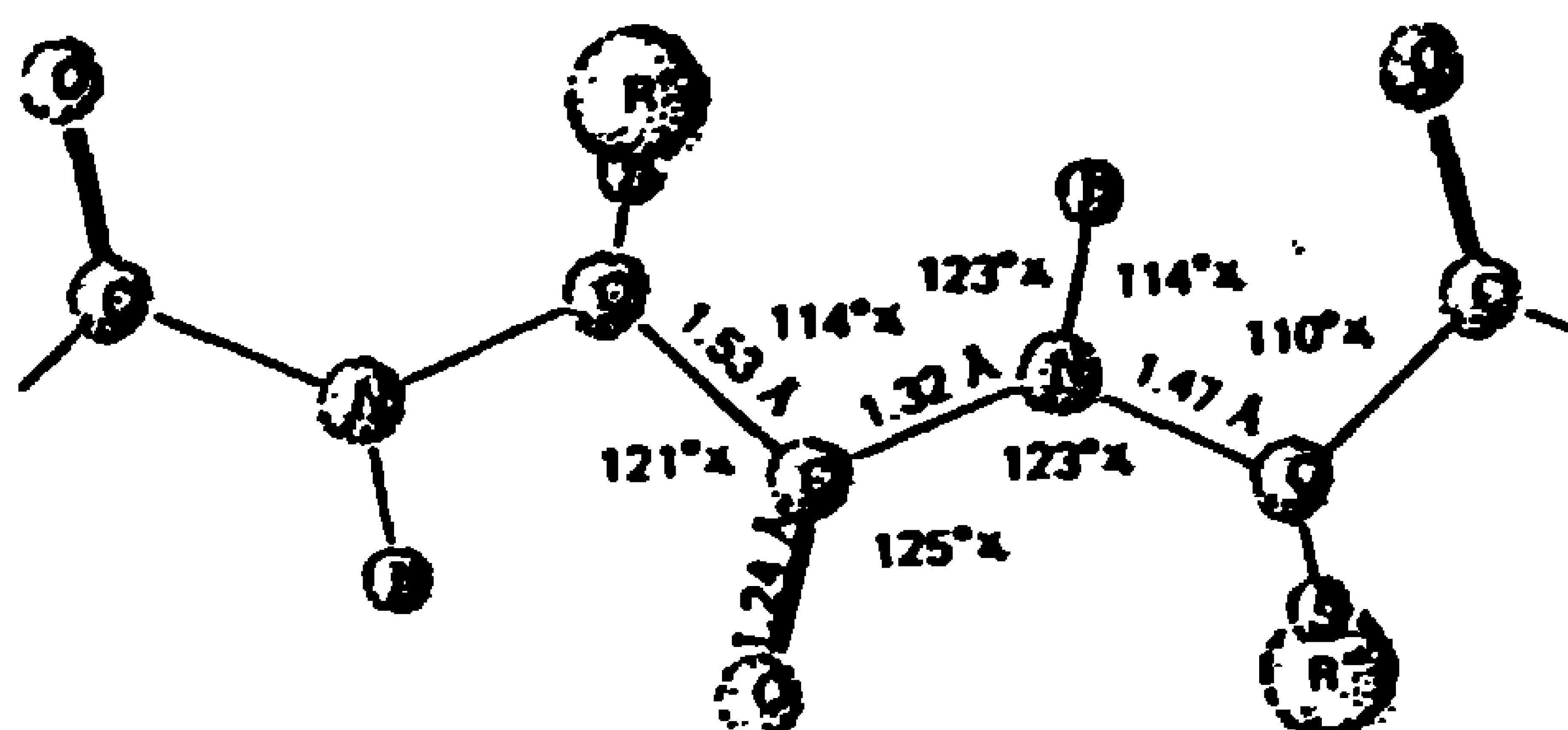




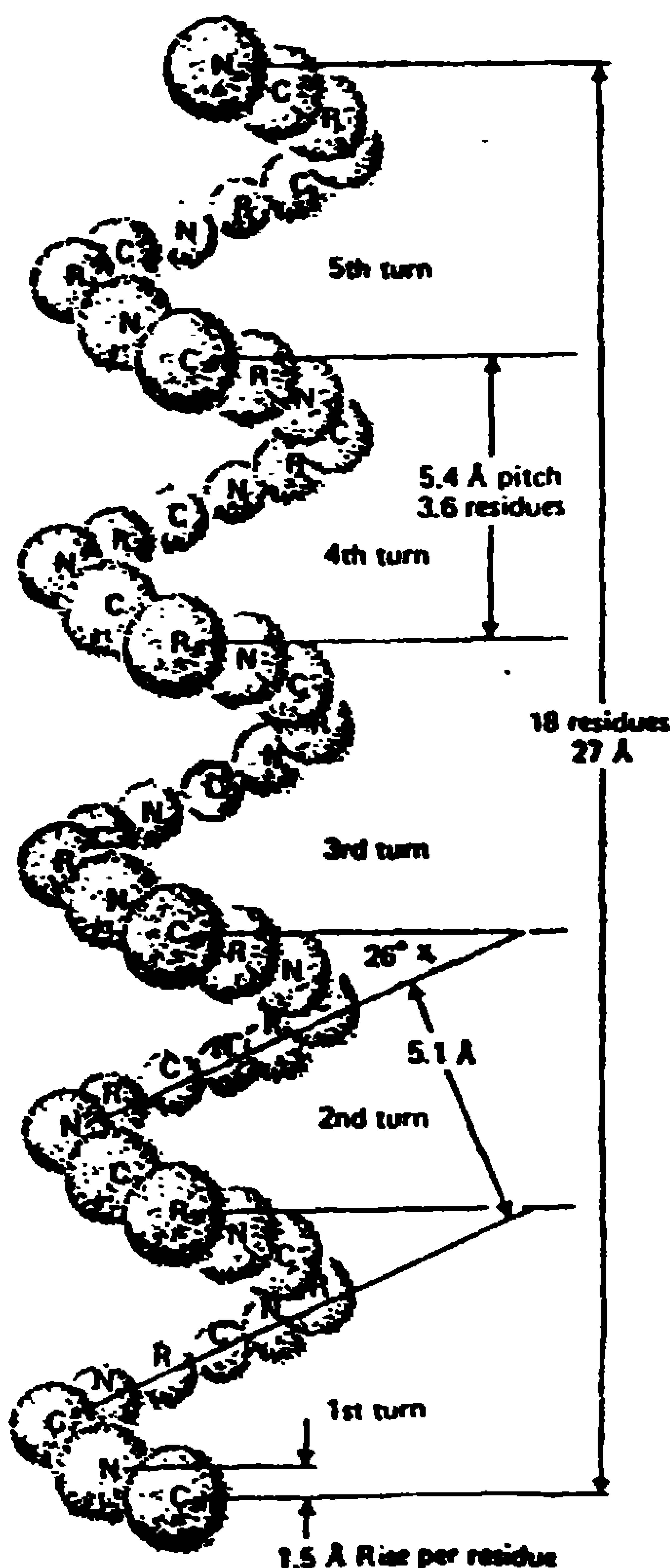


شكل ١٤ ـ ١٣ : التركيب البنائي للأحماض الأمينية الشائعة في الطبيعة .

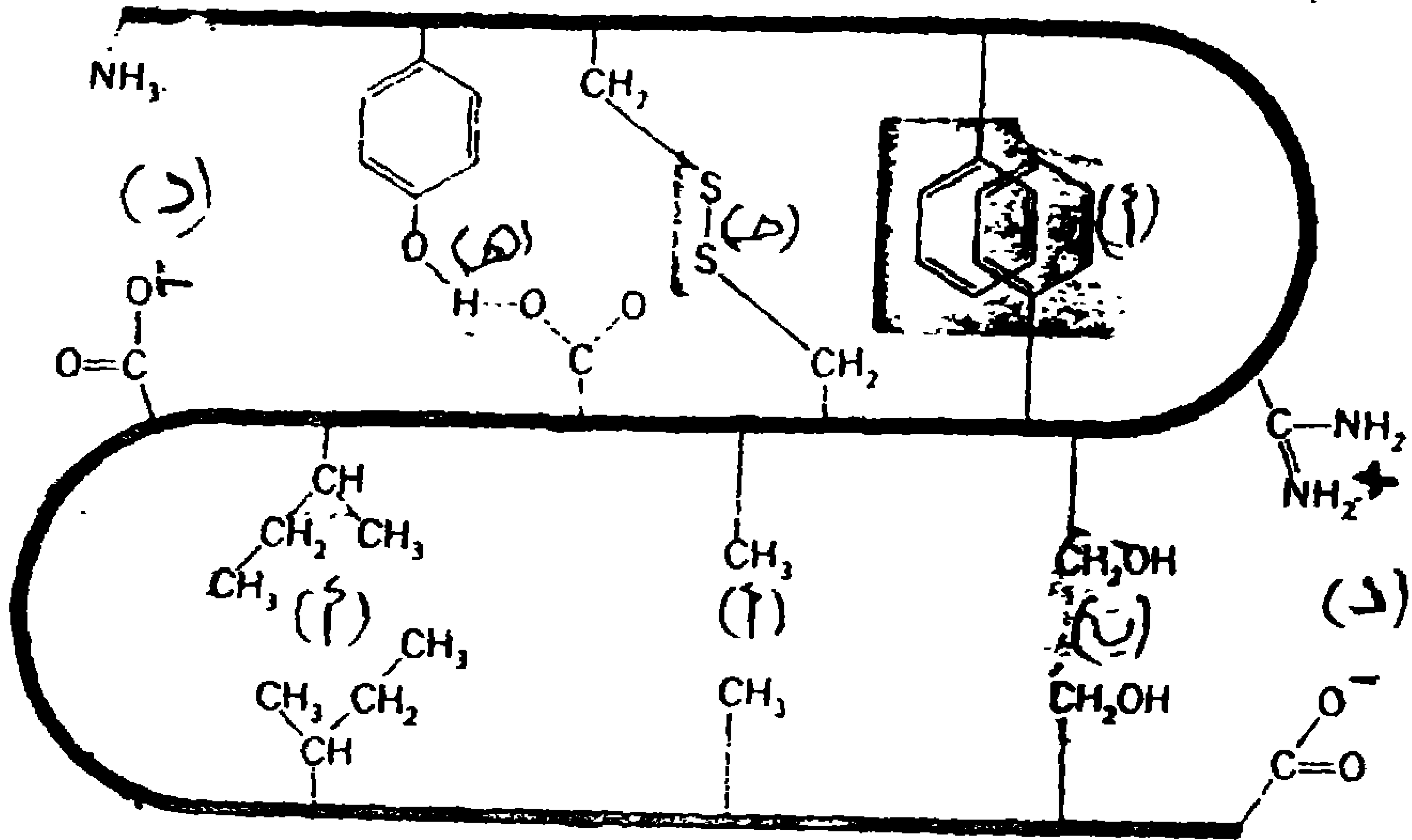
الحمض الأمينى التالي له مع فقد جزيء ماء . وعند تكوين سلسلة من عدد من الأحماض الأمينية فانه يطلق عليها اسم سلسلة بيتيدية . ولكل سلسلة بيتيدية نهايتان (طرفان) أحدهما يحتوى على مجموعة كربوكسيل غير مرتبطة ، وتسمى النهاية الكربوكسيلية ، والطرف الثانى يحتوى على مجموعة أمينية غير مرتبطة ، وتسمى النهاية الأمينية . وتتكون البروتينات من سلاسل بيتيدية ذات عدد مرتفع من وحدات الأحماض الأمينية . وللبروتينات مستويات مختلفة من التركيب تتقدم بتقدم مستوى تعقيد البروتين ، والتركيب الأولى للبروتين Primary structure (شكل ١٤ـ١٤) يمثل الروابط البيتيدية بين الأحماض الأمينية لتكوين السلاسل البيتيدية العديدة (البولى ببتيد Polypeptide). أما التركيب الثانوى للبروتين Secondarg structure فهو ينتج عن تشكل السلاسل البيتيدية العديدة فى شكل حلزونى فى أوضاع منتظمة ، أو شكل لولبى (شكل ١٤ـ١٥) . ومما يثبت هذه اللفات وجود روابط هيدروجينية بين الأحماض الأمينية المختلفة في السلاسل البيتيدية العديدة ، وخاصة بين مجاميع الكربونيل والأميد ـ أما التركيب الثالثى Tertiary structure (شكل ١٤ـ١٦) فهو ينتج عن تكوين طيات مكثفة وهذا ينتج عن نشاط العديد من أنواع الروابط ، فتتكون روابط متكافئة Covalent bonds بين جزيئين من أحماض السستئين Cysteine فينتج عنها رابطة ثنائى السلفيد كما تتكون أيضا روابط أيونية بين الأحماض الأمينية القاعدية مثل اللايسين والأرجنين وبين الأحماض الأمينية ثنائية الكربوكسيل مثل الاسبارتيك والجلوتاميك بجزيء البروتين. كما يشارك فى تكوين التركيب الثالثى روابط كارهة للماء Hydrophobic bonds التى تنتج من المجموعات العطرية (الحلقية) أو الأليفاتية غير القطبية بالأحماض الأمينية وروابط محبة للماء hydrophilic والتركيب الرابعى للبروتين Quarternary structure (شكل ١٤ـ١٧) يشمل اثنين أو أكثر من السلاسل البيتيدية لتكوين جزيء بروتين نشط . ويشارك فى تثبيت التركيب الرابعى روابط مماثلة للمذكورة فى التركيب الثالثى للبروتينات.



شكل ١٤ـ١٤ : التركيب الأولى للبروتين موضحا به أبعاد الروابط والزوايا C = ذرة كربون ، N = ذرة نيتروجين ، O = ذرة أكسجين ، R = بقايا جزىء حمض أمينى

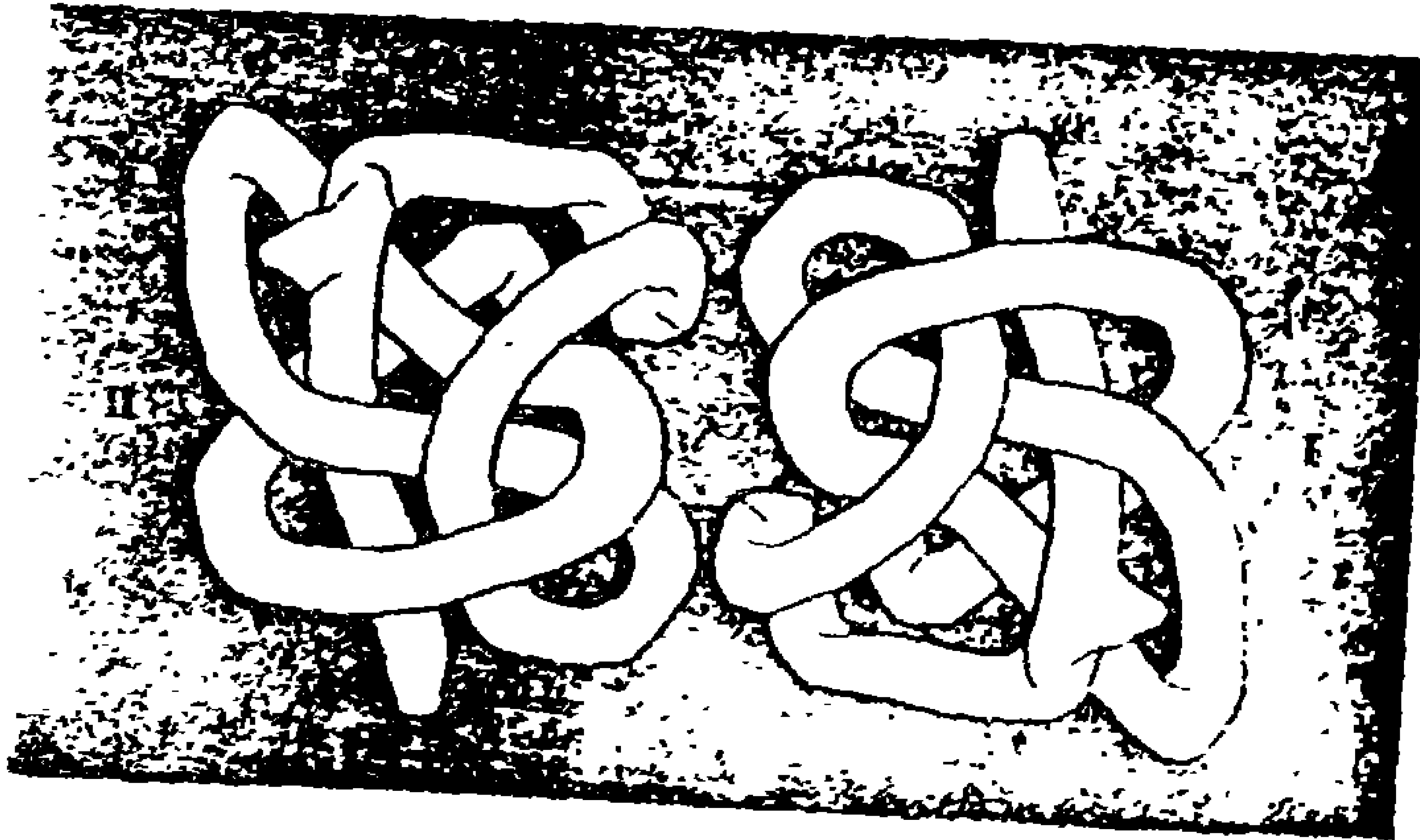


شكل ١٤ـ١٥ : التركيب الثانوى لعديد الببتيد مع توضيح الزوايا والأبعاد



شكل ١٤ــ١٦ : بعض الروابط التى تسهم فى تكوين التركيب الثالثى والرابعى لجزيئات البروتين ؛

أ ــ روابط كارهة للماء .
ب ــ روابط محبة للماء .
جـ ــ قنطرة ثنائية الكبريت.
د ــ مجاميع الكربوكسيل والأمين الحرة .
هـ ــ رابطة هيدروجينية .



شكل ١٤ــ١٧ : التركيب الرابعى لجزئ بروتين مكون من سلسلتين من عديدات الببتيدات.

لذلك ، فان تسلسل الأحماض الأمينية فى أى بروتين يعتبر على درجة كبيرة من الأهمية ، وتغيير هذا التسلسل قد يؤدى الى فقد نشاط البروتين . وبناء على ذلك فان حدوث أى تغيير (طفرة) فى تسلسل قواعد البيورين أو البريميدين فى الأحماض النووية المسئولة عن بناء البروتينات قد ينتج عنه تكون أنزيمات خاملة أو بروتينات غير فعالة .

وتقسم الفيريونات وفقا لنظام ترتيب بروتينات المحفظة الى قسمين أساسيين وهما الحلزونى helical وعديد الأوجه (Icosahedral أو Polyhedral) ، وقد يحدث تعديل لهذين التركيبين الأساسيين. فبعض الفيروسات البكتيرية Bacteriophages تحتوى على رأس عديد الأوجه Polyhedral مرتبط بذيل ذو تركيب حلزونى helical .

ومن الملاحظ حديثا عدم وجود الغلاف البروتينى فى بعض الفيروسات النباتية وتتكون فقط من حمض نووى رنأ RNA عادى والتى سميت بواسطة العالم دينير ١٩٧١ بالفيرويد Viroid والتى تسبب أمراضا هامة لكثير من النباتات البذرية مثل الدرنة المغزلية فى البطاطس : PSTV وغيرها .

أقسام الفيروسات وفقاً لنظام ترتيب البروتينات

(١) الفيروسات (الحلزونية) ذات التركيب الحلزونى :

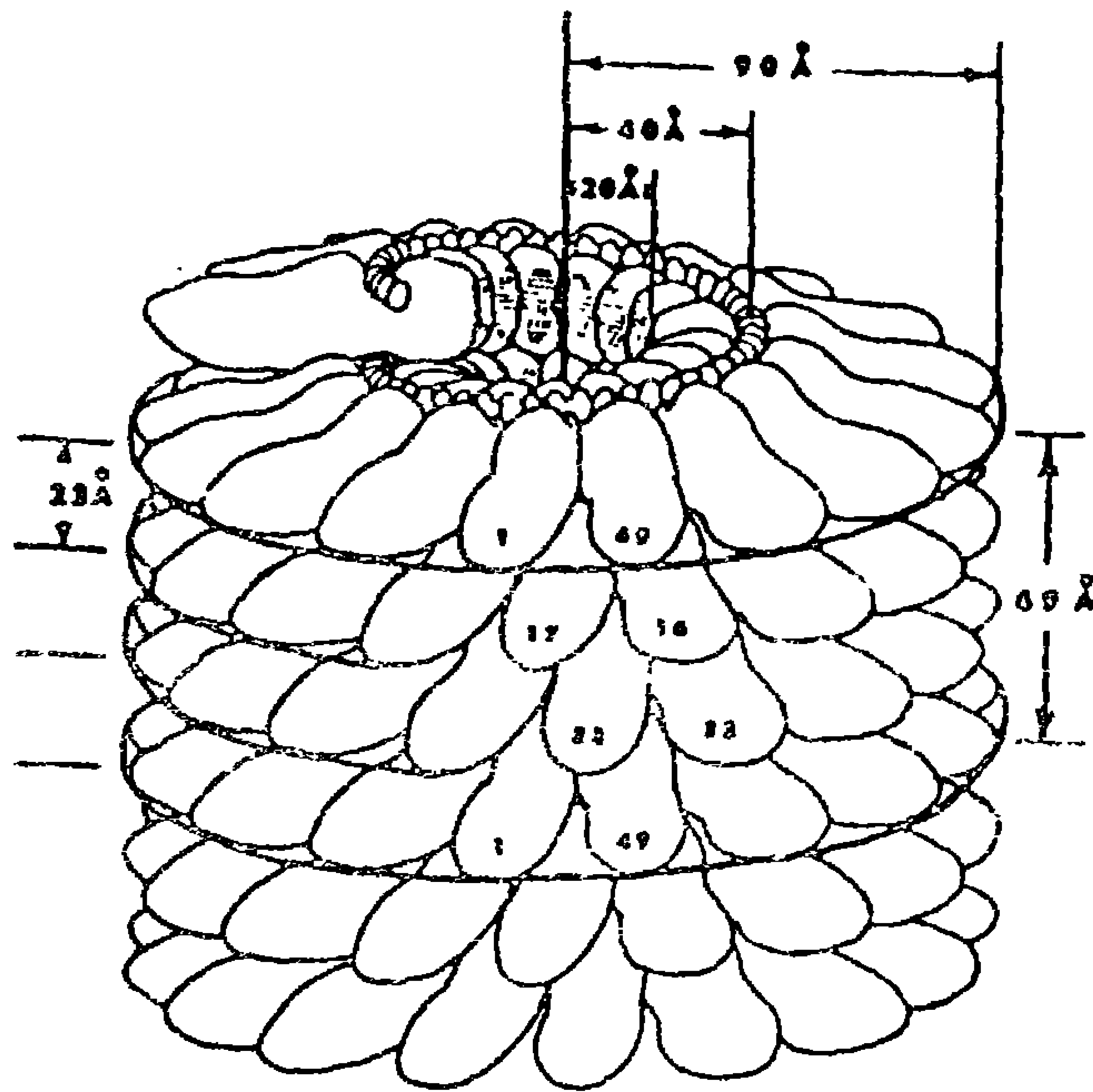
Helical viruses

معظم الفيروسات الحلزونية تكون المادة الوراثية فيها سلسلة مفردة من الحمض النووى رنأ RNA ، والغطاء البروتينى Protein Coat أو المحفظة الموجودة فى معظم الفيروسات الحلزونية تكون عادة عبارة عن نوع واحد من البروتين ، ويسمى بروتومر Protomer .

وأكثر الفيروسات الحلزونية التى درست باستفاضة هى فيروس تبرقش الدخان Tobacco Mosaic Virus (TMV) (شكل ١٤-١٨) وهو عبارة عن فيروس يحتوى على حمض نووى رنأ مفرد السلسلة (ss RNA

virus) وتشكل سلسلة الحمض النووى هذه حلزونا يمر داخل تجويف خاص فى وحدات البروتين • وبناء على ذلك تأخذ وحدات البروتين ترتيبا حلزونيا أيضا ، وتتصل كل وحدة بروتومر بثلاث قواعد نيتروجينية على الحمض النووى الريبوزى •

وترتبط وحدات البروتومر بالوحدات المجاورة لها من كلا الجانبين بروابط متماثلة مكونة عند فردها شريطا Ribbon كما تتصل وحدات البروتومر فى كل دورة بوحدات البروتومر أعلاها وأسفلها • ونظرا لأن الوحدات لا تصطف فوق بعضها تماما فان كل وحدة بروتومر ترتبط بوحدتين بروتومر أعلاها ووحدتين بروتومر أسفلها ، وهذا الترابط بين وحدات البروتومر يدعم ثبات الفيريونات ، فتبدو فى شكل عصويات صغيرة كما فى (شكل ١٤ـ١٨) •



شكل ١٤ـ١٨ : رسم توضيحى للتركيب الحلزونى لفيروسات موزايك الدخان

والوزن الجزيئي لوحدات البروتومر هو ١٧٫٥٠٠ دالتون ، وكل دورة من دورات الحلزون تحتوى على $\frac{1}{3}$ ١٦ وحدة بروتين بمعنى أن كل ٤٩ وحدة بروتين تكون ثلاث دورات كاملة ، ويكون ارتفاع الثلاث دورات ٦٩ انجستروم ، وأن الدورة الواحدة بناء على ذلك يكون ارتفاعها ٢٣ انجستروم ، ويكون قطر الحلقة التي يكونها الحمض النووى الريبوزى ٨٠ انجستروم ، أما قطر التجويف داخل جسيم الفيروس فهو ٤٠ انجستروم ويكون القطر الكامل لجسيم الفيريون ١٨٠ انجستروم. ويحتوى جسيم الفيروس الكامل على حوالى ٢٠٠٠ وحدة بروتين و ٦٠٠٠ قاعدة نيتروجينية ، وله محور دورانى واحد axis of rotation symmetry عند خط مركز الأسطوانة.

وتشبه كثير من الفيروسات النباتية في تركيبها تركيب فيروس تبرقش الدخان TMV وان اختلفت الأبعاد ، فيتحدد طول الفيريون بطول سلسلة الحمض النووى ، ويتحدد قطره بحجم وحدات البروتومر... كما أن عددا من الفيروسات الحيوانية تكون ذات شكل حلزونى أيضا ، ولكن عادة ما يكون تركيبها الحلزونى سائب أو أقل ارتباطا وملتو بصورة غير منتظمة داخل غلاف خارجي كما في بعض أنواع فيروسات ميكسو Myxov-iruses مثل فيروس مرض النيوكاسل Newcastle disease virus وفيروس الغدة النكفية mumps virus ، وعادة ما يمكن ملاحظة التركيب الحلزونى في مثل هذه الفيروسات الحيوانية في صور المجهر الالكترونى ، وربما يكون هذا التركيب الحلزونى غير المتسقيم السائب أو الأقل ارتباطا (مقارنا بالتركيب الحلزونى المستقيم لفيروس تبرقش الدخان TMV) هو ما يجعل وجود الغلاف envelop الخارجي ضروريا لحماية الحمض النووى من الأنزيمات المحللة للأحماض النووية nucleases والتى تكثر في السوائل الحيوية.

(٢) الفيروسات متعددة الأوجه :

Icosahedral or polyhedral viruses

معظم الفيروسات متعددة الأوجه تكون المادة الوراثية فيها هي

الحمض النووى د ن أ مزدوج السلسلة DNA ، والصورة التى يتواجد عليها الحمض النووى داخل الغطاء البروتينى فى الفيروسات متعددة الأوجه تختلف عن تلك التى ناقشناها فى الفيروسات الحلزونية ، فالفراغ المتاح داخل الغطاء البروتينى يكفى بالكاد لكمية الحمض النووى التى تحمل الصفات الوراثية الخاصة بفيروس معين ، لذلك يتحدد ترتيب وحدات البروتين المكونة للغطاء البروتينى وفق كمية الحمض النووى المراد تغليفها .

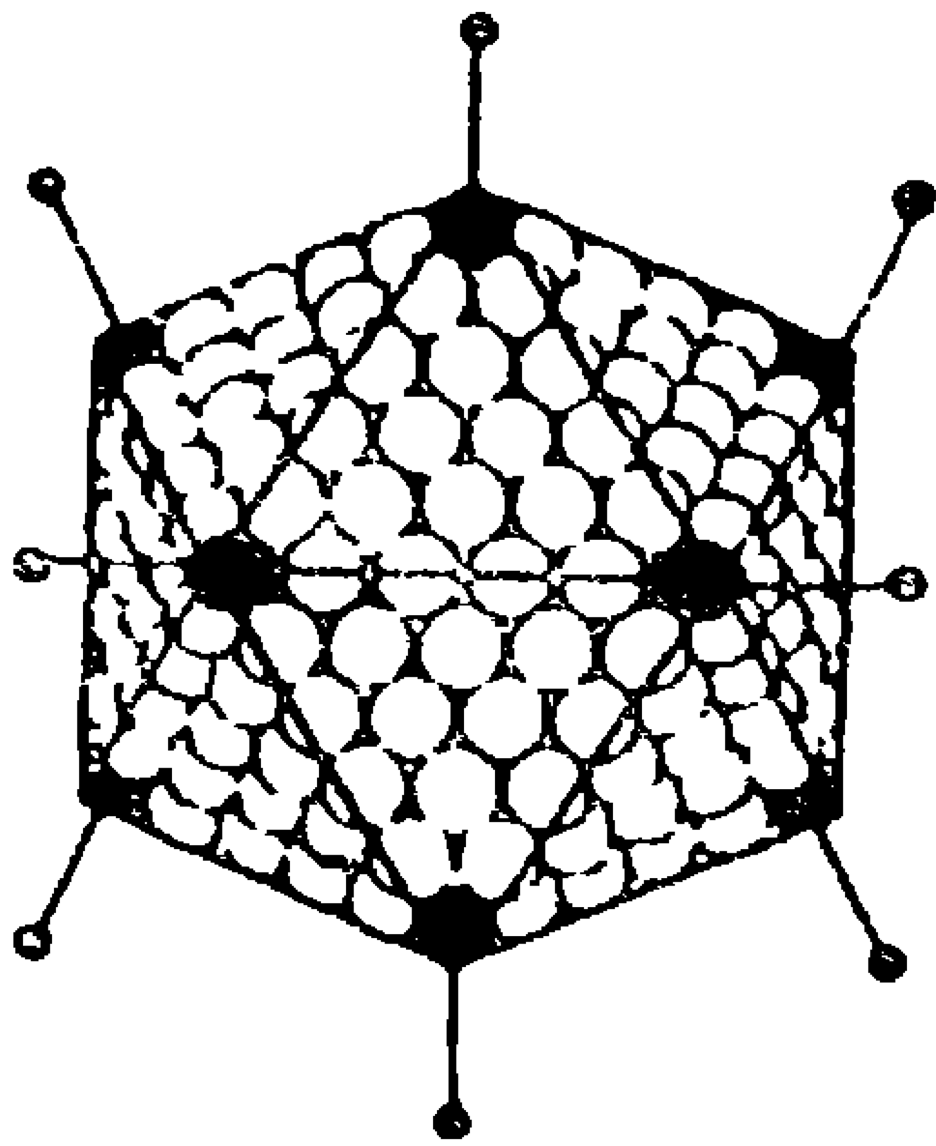
فالحمض النووى مع بعض بروتينات خاصة فى الفيروسات متعددة الأوجه يكون معبأ داخل الغطاء البروتينى تعبئة محكمة tightly packed فى الفراغ المتاح حيث يكوّن الحمض النووى ثنيات متوازية حول فراغ أسطوانى دقيق . ونظرا لشدة انضغاط هذه الثنيات فانه يوجد درجة محدودة من انفصال السلسلتين limited DNA denaturation للحمض النووى د ن أ .

وتحتوى الفيروسات الحيوانية متعددة الأوجه (Icosahedral) والتى تكون مادتها الوراثية عبارة عن د ن أ مزدوج السلسلة DNA على بروتينات قاعدية تشبه الهستونات (الهستونات هى بروتينات قاعدية توجد مرتبطة بالكروموسومات فى خلايا الأحياء ذات النواة الحقيقة) .

ويؤدى وجود هذه البروتينات القاعدية مع الحمض النووى د ن أ الى تكوين ما يعرف باسم شبيهات الكروماتين Chromatin like structure وشبيهات الكروماتين هى التى تنضغط بشدة داخل الغلاف البروتينى ، مثلها فى ذلك مثل انضغاط الكروماتين فى كروموسومات الأحياء ذات النواة الحقيقة .

وينبغى الاشارة الى أن التركيب عديد الأوجه لا يقتصر على الفيروسات الحيوانية فقط ، بل ان بعض الفيروسات النباتية وكثيرا من الفيروسات البكتيرية (الفاج) تكون ذات تركيب عديد الأوجه أيضا .

ويتكون الغطاء البروتيني للفيروسات عديدة الأوجه سواء نباتية أو حيوانية أو بكتيرية من وحدات بروتينية متعددة السلاسل تسمى الكابسومرات Capsomers . ويمكن تمييز هذه الكابسومرات في صور المجهر الالكتروني للفيروسات المصبوغة بالصبغ السالب Negative staining كحلقة بها ثقب مركزي . ويوجد نوعين من الكابسومرات ، النوع الأول من الكابسومرات تتصل بخمس كابسومرات مجاورة لها . وهذه تسمى بنتامرات Pentamers أو بنتونات . (وكلمة بنتا Pentons تعني خمسة) وتوجد البنتامرات عند رؤوس المثلثات (شكل ١٤-١٩) في المحفظة . وتتكون عادة من خمس بروتومرات Protomers مرتبطة ببعضها بروابط غير متكافئة Noncovalent bonds ، والنوع الثاني من الكابسومرات هي الهكسامرات hexamers أو الهكسونات hexons وهي ترتبط مع (٦) كابسومرات مجاورة ، وتتكون عادة من ستة بروتومرات Protomers وتوجد الهكسونات عند أوجه المثلثات (شكل ١٤-١٩) ، وترتبط البروتومرات مع بعضها لتكون الكابسومرات كما ترتبط الكابسومرات مع بعضها لتكون الغطاء البروتيني بروابط غير متكافئة Noncovalent bonds . وان كانت الروابط بين البروتومرات أقوى من مثيلتها بين الكابسومرات .



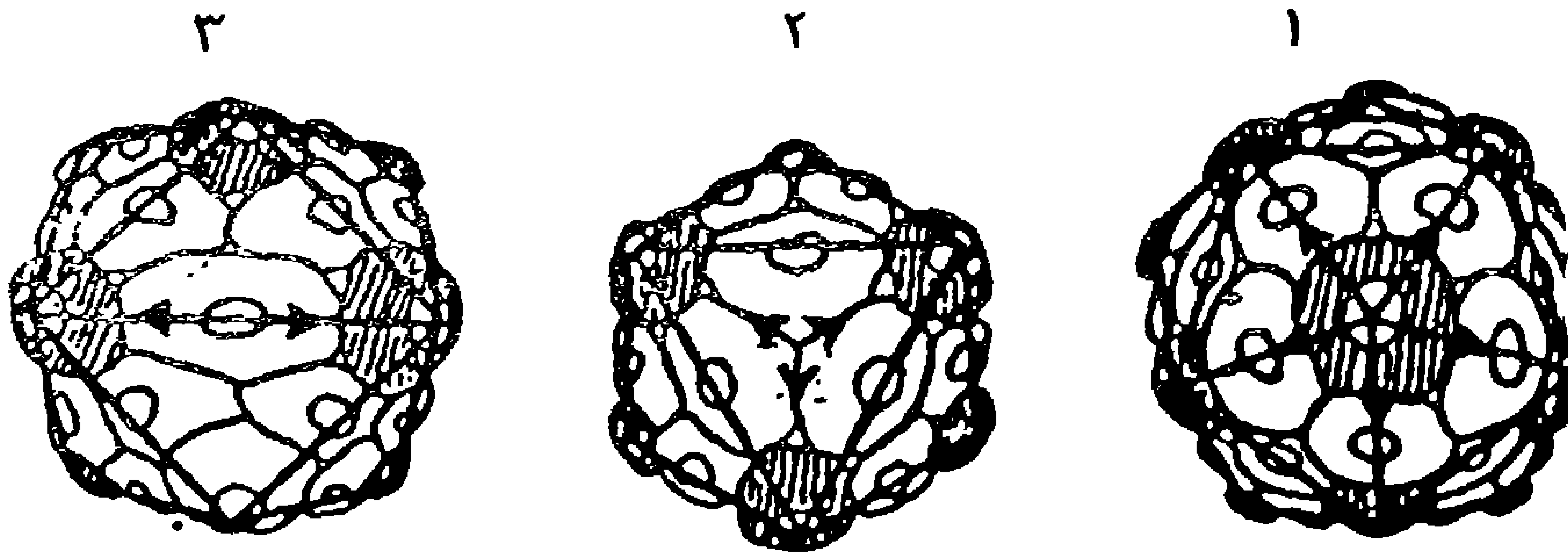
شكل ١٤-١٩ : التركيب عديد الأوجه لاحظ وجود البنتامرات دوائر مغلقة والهكسامرات دوائر مفتوحة .

ويخضع تكوين الأشكال عديدة الأوجه Polyhedral بواسطة البنتامرات والهكسامرات لقوانين التبلور Crystallography حيث تتكون الأجسام عديدة الأوجه بتجميع أعداد محددة من البنتامرات

والهكسامرات ، فأصغر جسم عديد الأوجه Polyhedral يمكن تكوينه يجب أن يحتوى على (١٢) اثنى عشر بنتامرات بدون أى هكسامرات ، والأكبر من ذلك مباشرة يجب أن يحتوى على (١٢) اثنى عشر بنتامرات، و(٢٠) عشرون هكسامرات ، وأكبر فيريون ذو شكل متعدد الأوجه يحتوى على (١٤٧٢) ألف وأربعمائة واثنان وسبعون كابسومرات، وهوأحد الفيروسات التى تصيب الحشرات . ويؤدى تجمع الهكسامرات مع بعضها بدون بنتامرات الى تكوين صفائح يمكن أن تتحول الى أشكال اسطوانية ، ولكنها لا يمكنها تكوين أجسام متعددة الأوجه . لذلك لا توجد فيروسات متعددة الأوجه مكونة من هكسامرات فقط، ومن الضرورى وجود البنتامرات لتكوين الشكل عديد الأوجه .

والفيروسات عديدة الأوجه لها ثلاث أنواع من المحاور الدورانية (شكل ١٤ـ٢٠) .

شكل ١٤ـ٢٠ : المحاور الدورانية فى الفيروسات متعددة الأوجه :



(١) المحور الخماسى يمر من مركز النيوكليوكابسيد الى البنتامرات .
(٢) المحور الثلاثى يمر من مركز النيكليوكابسيد الى الهكسامرات .
(٣) المحور الثنائى يمر من وسط الحافة البارزة بين مثلثين الى مركز النيوكليوكابسيد .

أنواع المحاور الد ورانية :

(١) المحاورالخماسية : Five fold axes

وهى تربط مركز النيوكليوكا سيد بمركز البنتونات عند الاثنى عشر ركنا التى تحتوى على البنتونات على الشكل متعدد الأوجه ، وقد سميت هذه المحاور بالخماسية لأنه يبدو للعين خمس صور متطابقة تماما عند دوران الفيريون دورة كاملة حول هذا المحور .

(٢) المحاور الثلاثية : Three fold axes

وهذه المحاور تمر فى مركز المثلث بين ثلاث من الهكسامرات ، وعند دوران الكابسيد دورة كاملة تتكون ثلاث صور متطابقة .

(٣) المحاور الثنائية : Two fold axes

وهى المحاور التى تمر فى وسط الحافة البارزة بين مثلثين .. والشكل متعدد الأوجه فى هذه الحالة يقال عنه انه ذو محاور دورانية ٥ : ٣ : ٢ كما فى الشكل ١٤-٢٠ .

وتحتوى الفيروسات الحيوانية عديدة الأوجه عادة على بنتونات ذات بروتومرات مختلفة عن البروتومرات الموجودة فى الهكسونات ، ولكن الفيروسات النباتية ، وكذلك الفاج المحتوى على الحمض النووى رنا RNA ذات الأوجه العديدة تحتوى على نفس البروتومرات فى كلا من البنتونات والهكسونات . ولذلك تكون البروتومرات فى الحالة الأخيرة على درجة من المرونة تسمح لها بتكييف وضعها وزاوية ارتباطها فى كلا من البنتونات والهكسونات . أما البروتومرات فى الفيروسات الحيوانية فلا مرونة لها مما يجعلها اما جزء من البنتونات فقط أو الهكسونات فقط .

بعض الاختلافات فى تركيب الغطاء البروتينى عديد الأوجه :

فى بعض فيروسات الأدينو Adenoviruses تحتوى الهكسونات على ثلاث بروتومرات ترتبط كل منها بكلا البروتومرتين الأخرتين فى الهكسون . أما فى الفيروسات ذات الكابسيد الكبير مثل مجموعة فاج تى ٢ وبعض فيروسات الأدينو Adenoviruses وفيروسات الهربس herpesviruses تحتوى على عدة سلاسل مختلفة من السلاسل الببتيدية ، وكل هذه السلاسل لا تخل بالمحاور الدورانية . كما أن المحفظة فى فيروسات الريو Reoviruses الذى يتكون من طبقتين من البروتومرات يخضع أيضا لما قيل عن المحاور الدورانية فى الفيروسات عديدة الأوجه دون أى خلل .

(٣) الفيروسات ذات التركيب المزدوج : Binal

تجمع بعض الفيروسات بين التركيبين الحلزونى وعديد الأوجه فى جسم واحد ، وذلك كما فى مجموعة الفاجات الكبيرة مثل فاجات تى مزدوجة الأرقام Teven phages حيث يكون الرأس ذو التركيب عديد الأوجه ، أما الذيل فهو ذو تركيب حلزونى ، ويحتوى الرأس على الحمض النووى الخاص بالفيروس ، ويمثل الذيل القناة التى يحقن بها الحمض النووى الخلية العائل .

ثالثا : الغلاف : The envelope

ليس لكل الفيروسات غلاف ، فالكثير من الفيروسات ليس له غلاف . ولكن الغلاف الموجود فى بعض الفيروسات يشبه فى تركيبه الغشاء الخلوى ، فهو يحتوى على الدهن والبروتينات وذو سطحين أحدهما داخلى والآخر خارجى . والدهن الموجود فى الغلاف يكون عادة ناتج من الغشاء الخلوى للخلية العائل ، أما البروتينات فهى نوعان وهما الجليكوبروتين glycoproteins والبروتين الشبكى Matrix Protein .

(١) الجليكوبروتين : Glycoprotein

وهى الطبقة المعرضة للسطح الخارجى من الفيريونات، وهـــذه البروتينات تحتوى على أصل جلوكوز مرتبط فى النهاية المحبة للماء hydr-ophilic من جزيئ البروتين والتى تكون تجاه الوسط الخارجى للفيروس. أما النهاية غير المحبة للماء hydrophobic من الجزيئ ، فتكـــون مرتبطة فى طبقة الدهن متجهة لداخل جزيئ الفيروس . وقد تمتد طبقة الجليكوبروتين هذه لترتبط بالبروتين الشبكى matrix protein أو حتى بالمحفظة capsid فى الغطاء البروتينى . وتكون طبقة الجليكوبروتيـــن مميزة غالبا فى صور المجهر الالكترونى حيث تظهر فى صورة حبيبـــات دقيقة على شكل بروزات spikes على السطح الخارجى للفيريون .

يبلغ طول هذه البروزات فى فيروس الانفلونزا ١٠ نانوميتر ، وتبعـد عن بعضها مسافة ٧ــ٨ نانوميتر ، وهى ذات نوعين مختلفين وهما :

١ ــ بروزات التلازن الدموى Hemagglutinating spikes
٢ ــ بروزات أنزيم النيور اميند يز Neuraminidase enzymes spikes

ورغم أن الجليكوبروتين ذو وظيفة حيوية هامة للفيريون ، الا أنهـا لا تشكل أهمية كعنصر فى تركيب غلاف الفيريون نفسه ، حيث أن الطفرات المتحصل عليها فى فيريونات فيروسات البارا ميكسو Paramyxoviruses والتى فقدت القدرة على تكوين الجليكوبروتين لا يختلف شكلها الظاهرى عـــن الفيريونات العادية ، ولكنها تفقد قدرتها على غزو الخلايا .

(٢) البروتين الشبكى : Matrix Protein

وهو النوع الثانى من البروتينات التى تشكل الغلاف ، ولا ترتبـط به مجموعة جلوكوز كما فى البروتين الأول . ويكون هذا البروتين الطبقـــة الداخلية من الغلاف فى فيريونات فيروسات ارثوميكســـو Orthomyxo

وباراميكسو Paramyxo والرابدو Rabdoviruses ... ويبدو أن هذا البروتين يشكل حلقة الوصل بين الغلاف والمحفظة ·

وبروتينات الغلاف مثلها مثل بروتينات المحفظة تتكون بواسطة جينات فيروسية ولها صفات أنتيجينية مميزة للفيروسات ، بينما تكون أصول الدهون والكربوهيدرات فى الجليكوبروتين معتمدة فى تكوينها على الخلية العائل · وهى تختلف على فيريونات نفس الفيروس المتحصل عليه من خلايا مختلفة · وعلى ذلك فالفيريونات قد تحتوى على سطحها كربوهيدرات ودهون من مصدر خلوى ·

وفى عدد من الفيريونات المغطاة (أو ذات الغلاف) تؤدى الطبيعة الزيتية لطبقة الدهن مع غياب الروابط بين وحدات بروتين الغلاف الى منع تكوين غلاف ذو قوام متماسك ، وينتج عن ذلك أشكال متعددة Pleomorphism لفيريونات الفيرس الواحد · وفى الحقيقة فان عددا من الفيريونات المغلفة ذات التركيب الحلزونى أظهرت أشكالا مختلفة عديدة عند تجفيفها للفحص بالمجهر الالكترونى ·

وقد سبق الاشارة الى ذلك فى جزء سابق ·

ويجب أيضا الاشارة الى أن فيروسات الرابدو Rabdoviruses المعروفة بشكلها المميز الذى يشبه الرصاصة Bullet shaped هو من الفيروسات الحلزونية ذات الغلاف الخارجى وفيروسات ألفا Alphaviruses -فيها حيث تلتصق الطبقة الدهنية بشدة الى النيوكليوكابسيد nucleocapsid مما يؤدى الى ظهور فيريوناتها فى صورة كروية مستديرة ·

دهون الغلاف:

ويؤدى وجود الطبقة الدهنية فى بعض الفيروسات ذات الغلاف الى جعل فيريوناتها حساسة للمذيبات العضوية كالايثير ، ويستخدم

الايثير للتمييز بين الفيروسات المغلفة عن تلك الغير مغلفة ، وتتراوح نسبة المواد الدهنية Lipids فى بعض الفيروسات بين ٥ الى ٢٤٪ (جدول ١٤ـ٣) • وتحتوى دهون معظم الفيروسات على الفوسفولبيدات.

رابعاً : المكونات الأخرى للفيريونات

Other virion components

اضافة الى البروتينات السابقة ، تحتوى بعض الفيريونات على بروتينات داخلية ــ قاعدية بصفة عامة ــ والتى ترتبط مع الأحماض النووية فى لب Core الفيريون • ففى فيريونات فيروس بابوفا Papova virus تكون هذه البروتينات عبارة عن الهستونات العادية من الخلايا العائل بينما فى فيريونات فيروس الأدينو Adenovirus تكون هذه البروتينات مشابهة للهستونات، وتتكون بواسطة جينات فيروسية • وفى كلتا الحالتين فان هذين النوعين من البروتينات تكون معقدا مع الحمض النووى فى الفيريون يشبه معقد الكروماتين فى الكروموسومات فى الخلايا الحيوانية •

كما يجب الاشارة الى أن بعض أنواع الفاج تحتوى على سلاسل ببتيدية صغيرة أو عديدات الأمين Polyamines وهذه المركبات عديدة الكاتيون Polycationic يبدو أنها تساعد فى احكام تعبئة الحمض النووى بواسطة ربط الأطراف المختلفة للحمض النووى .

كما تحتوى فيريونات الريو Reoviruses على حوالى ٢٠٠٠ ــ سلسلة نووية صغيرة small oligonucleotides وليس لها وظيفة معروفة •

أما الفيروسات المعقدة مثل فيروسات الجدري Poxviruses فان الفيريون يشبه القالب Brick-shaped أو بيضاوى • ويكون الحمض النووى الفيروسى (DNA) مرتبطا ببروتين خاص فى صورة قرص محدب السطحين ومحاط بعدة طبقات من بروتينات دهنية Lipoproteins والطبقة

الخارجية منها تكون ذو تركيب ليفي خشن بما يظهر هذه الفيريونـــــات المصبوغة صبغا سالبا بمظهر مميز تنفرد به بين جميع الفيروسات ومثـــــل الفاجات الكبيرة Large phages : كمجموعة فاج تي المزدوجة الأرقـــام مثل T2 ، T4 ، T6 ، وكذلك فاج لامدا (λ) Lambda فهي ذات تركيب معقد نسبيا نظرا لاحتوائها على رأس متعدد الأوجـــه polyhedral وذيل حلزوني مزود بألياف ذيلية fiberils (شكل ١٢ـ٢).

الفصل الخامس عشر
تقسيم وتسمية الفيروسات

Viruses classification and Nomenclature

أولاً : تقسيم الفيروسات

تنفرد الفيروسات بصفات خاصة ضمن جميع الكائنات المعدية (الممرضة) فهى كائنات ليس لها تركيب خلوى ، وطورها الخارجى بسيط التركيب جدا ، خامل بيولوجيا (حيويا) ، وهو يتكون أساسا من حمض نووى واحد فقط مغلف بغطاء بروتينى ... وهى متناهية الصغر بحيث لا يمكن رؤيتها حتى بالمجهر الضوئى .

وقد سبق مناقشة ما اذا كانت الفيروسات تعتبر كائنات حية أم لا ، وقد افترض معظم العلماء العاملون فى مجال علم الفيروسات فى بداية القرن العشرون أن الفيروسات عبارة عن أحياء خلوية دقيقة لاتختلف عن الأحياء الأخرى الا فى الحجم ، الى أن تم اكتشاف قدرتها على الانتشار خلال الآجار أو ترسيبها بالكحول مع احتفاظها بخواصها الحيوية ، فسميت " أساس السوائل المعدية " Contagious ثم تم اكتشاف قابلية الفيروسات للتبلور ، وكذلك تم اكتشاف التركيب الكيميائى لها .

ورغم اكتشاف التركيب الكيميائى للفيروسات ومعرفة العديد من خواصها ، فقد وضعت قديما فى قسم منفصل من أقسام البكتيريا (Order Virales) : ضمن المملكة النباتية .

ولكن بعد اكتشاف طبيعة الفيروسات وطبيعة البكتيريا أيضا ، فقد فصلت البكتيريا (وهى كائنات لا تحتوى على نواه حقيقية) من المملكة النباتية ووضعت فى مملكة منفصلة سميت مملكة ذوات النواه البدائية (Kingdom procaryotoe) كما أن الفيروسات لم يصبح وجودها فى المملكة النباتية أو مملكة ذوات النواه البدائية مقبولا للاختلاف الكبير

فى طبيعة تركيبها ، وقد قام لووف Lwoff وزملائه عام ١٩٦٢ بتجميع الفيروسات فى مجموعات (جدول ١٥ ـ ١) وفقا لصفات فيريوناتها : مثل نوع الحمض النووى الداخل فى تركيبها وما اذا كان مفرد أو مزدوج السلسلة ، وكذلك شكل المحفظة وحجمها وتنظيمها ووجود أو غياب الغلاف Envelope.

ولا يتبع هذا التقسيم أى علاقة تطورية Evolutionary relationship بين الفيروسات بل يعتمد هذا التقسيم على وضع الفيروسات فى مجموعات وفقا لصفات يمكن قياسها بدقة .

ومن الملاحظ فى هذا التقسيم أن مدى العوائل التى تصيبها الفيروسات قد أخذت درجة أقل من الأهمية فى تجميع الفيروسات فى المجموعات المختلفة ، ولكن اختلاف الطرق المتبعة فى دراسة الفيروسات قد أدت الى تقسيم الفيروسات بصفة عامة الى :

أ ـ فيروسات نباتية وهى الفيروسات التى تصيب النباتات .
ب ـ فيروسات حيوانية وهى الفيروسات التى تصيب الانسان والحيوانات .
جـ ـ فيروسات بكتيرية وهى الفيروسات التى تصيب البكتيريا .

وهذه الأخيرة تسمى بكتيريو فاج Bacteriophage أى لاقمات البكتيريا وعادة ما تختصر الى الفاج phage .

ونظرا للعيوب الواضحة فى هذا التقسيم ، فقد تكونت لجنة دولية لتقسيم الفيروسات International Committee on Taxonomy of Viruses (ICTV) وقد تكونت هذه اللجنة من أعضاء يمثلون الجمعيات العلمية الميكروبيولوجية الأعضاء فى الاتحاد الدولى للجمعيات الميكروبيولوجية International Union of Microbiological Societies (IUMS).

وقد توصلت هذه اللجنة الى الاتفاق على القواعد العامة لتسمية وتقسيم الفيروسات وقد وافقت اللجنة فى اجتماعها الذى عقد فى استراسبورج فى أغسطس ١٩٨١ أثناء انعقاد المؤتمر الدولى الخامس لعلم الفيروسات من اقرار جميع عائلات ومجموعات الفيروسات وعددها (٥١) واحد

جدول ١٥ ـ١ : تقسيم الفيروسات وفقا لصفات فيريوناتها

الحمض النووي	ترتيب المحفظة	وجود الغلاف	حجم المحفظة بالانجستروم	عدد الكابسومرات	علامات خاصة	أمثلة: فيروسات بكتيريا	فيروسات نبات	فيروسات حيوان
رن أ	حلزوني	بدون غلاف (معراه)	١٧٥×٣٠٠٠				موزايك الدخان	
		مغطاه (بغلاف)	٩٠					فيروسات ميكسو
			١٨٠					فيروسات باراميكسو
	عديد الأوجه	معراه	٢٠٠ — ٢٥٠			فاج f2		
			٢٨٠	٣٢			التقزم المتورد في الطماطم TBSV	فيروسات بيكورنا
			٧٠٠	٩٢				فيروسات ريو
دن أ	حلزوني	معراه	٥٠ × ٥٠٠٠		دن أ احادي السلسلة	فاج fd		
		مغطاه	٩٠ — ١٠٠					فيروسات الجدري (بوكس)
	عديد الأوجه	معراه	٢٢٠	١٢	دن أ احادي السلسلة	فاج فاي اكس ١٧٤		
			٤٥٠ — ٥٥٠	٧٢				فيروسات بابوفا
			٦٠٠ — ٩٠٠	٢٥٢				فيروسات أدينو
		مغطاه		١٦٢				فيروسات الهربس
	مركب أو معقد	معراة الرأس عديد الأوجه الذيل حلزوني	الرأس ٩٥٠×٦٥٠ الذيل ١٧٠×١١٥٠			فاجات تي مزدوجة الأرقام		

وخمسون (جدول ١٥ــ٢) ، وهى تلك الفيروسات التى تغزو الفقاريات واللافقاريات والنباتات والبكتيريا • ويوضح الجدول ١٥ــ٢ شكل الفيروسات المختلفة مرسومة بنفس مقياس الرسم لاعطاء دلالة تقريبية عن شكل وحجم الفيروسات مقارنا بعضها ببعض ، ولكنه لا يمكن اتخاذ هذه الأشكال كوسيلة تعريفية لعدة أسباب:

(١) الفيروسات المختلفة فى نفس العائلة قد تختلف الى حد ما فى الشكل والحجم ، فبعض العائلات مثلت فى الرسم بفرد مشهور منها ذو قياسات محددة ، وبعض العائلات الأخرى أخذ متوسط أبعاد أفرادها • وحيثما وجدت اختلافات كبيرة فى قياسات أفراد عائلة ما فقد أجرى عمل رسمين كما فى حالة عائلة اينو Inoviridae .

(٢) بعض الفيروسات ــ وخصوصا الكبيرة ذات الغلاف enveloped ــ تكون متعددة الأشكال •

(٣) صعوبة قياس أبعاد بعض الفيروسات•

(٤) رسمت الفيروسات الصغيرة بخط يوضح أنها ذات شكل متعدد الأوجه Icosahedral دون تحديد الحجم ــ أما الفيروسات الكبيرة فقد وضحت حدودها أو حدود قطاعها أو كلاهما لتوضيح علامات مورفولوجية أساسية •

هذا ••• وقد وضع أحد أشهر أفراد كل عائلة أو مجموعة ، ولكن الأبعاد والشكل المستعمل قد لا تكون هى تلك الأبعاد نفسها للفيروس المذكور •

أما الجدول (١٥ــ٣) فقد وضع لتلخيص العائلات والمجموعات وخواصها الأساسية وأسماء العوائل الخاصة بها •

جدول ١٥ــ٢ : الأشكال والأحجام النسبية ووجود الغلاف
من عدمه ونوع الحمض النووى فى عائلات ومجموعات الفيروسات المعروفــــة

أولا : الفيروسات التى تصيب البكتيريا :

THE FAMILIES OF VIRUSES INFECTING BACTERIA

تابع جدول ١٥ـ٢ : الأشكال والأحجام النسبية ووجـــود الغلاف من عدمه ونوع الحمض النووى فى عائلات ومجموعات الفيروســـــات المعروفة ·

ثانيا : الفيروسات التى تصيب النباتات:

THE FAMILIES AND GROUPS OF VIRUSES INFECTING PLANTS

NON-ENVELOPED

dsDNA

Caulimovirus (Cauliflower mosaic)

dsRNA

Reoviridae (Wound tumor)

ssDNA

Geminivirus (Maize streak)

ssRNA

Alfalfa mosaic virus group

Ilarvirus (Tobacco streak)

Bromovirus (Brome mosaic)

Cucumovirus (Cucumber mosaic)

Nepovirus (Tobacco ringspot)
Comovirus (Cowpea mosaic)
Pea enation mosaic virus group

(2 particles ?)
Dianthovirus (Carnation ringspot)

Tymovirus (Turnip yellow mosaic)
Tombusvirus (Tomato bushy stunt)
Sobemovirus (Southern bean mosaic)
Tobacco necrosis virus group
Maize chlorotic dwarf virus group

Luteovirus (Barley yellow dwarf)

Hordeivirus (Barley stripe mosaic)

Tobravirus (Tobacco rattle)

Tobamovirus (Tobacco mosaic)

Potexvirus (Potato X)

Carlavirus (Carnation latent)

Potyvirus (Potato Y)

Closterovirus (Beet yellows)

ENVELOPED

ssRNA

Rhabdoviridae (Lettuce necrotic yellows)

Tomato spotted wilt virus group

تابع جدول ١٥ـ٢ : الأشكال والأحجام النسبية ووجود الغلاف من عدمه ونوع الحمض النووى فى عائلات ومجموعات الفيروسـات المعروفة .

ثالثا : عائلات الفيروسات التى تصيب الفقاريات:

THE FAMILIES OF VIRUSES INFECTING INVERTEBRATES

NON-ENVELOPED

ds DNA

Iridoviridae
(Tipula iridescent virus)

ds RNA

Reoviridae
(Bluetongue orbivirus)

ss DNA

Parvoviridae
(Densovirus of Galleria)

ss RNA

Nodaviridae
(Nodamura virus)

Picornaviridae (Cricket paralysis virus) p 120

ENVELOPED

ds DNA

Poxviridae

Baculoviridae

ss RNA

Rhabdoviridae

Bunyaviridae
(Bunyamwera virus)

Togaviridae
(Sindbis alphavirus)

تابع جدول ١٥ـ٢ : الأشكال والأحجام النسبية ووجــود الغلاف ونوع الحمض النووى فى عائلات ومجموعات الفيروسات المعروفــــة

ثالثا : عائلات الفيروسات التى تصيب اللافقاريات:

THE FAMILIES OF VIRUSES INFECTING INVERTEBRATES

NON-ENVELOPED

dsDNA

Iridoviridae
(Tipula iridescent)

Adenoviridae
(Human adeno 2)

Papovaviridae
(Shope papilloma)

dsRNA

Reoviridae
(Reo type 1)

ssRNA

Caliciviridae
(Vesicular exanthema of swine)

Picornaviridae
(Human polio 1)

ssDNA

Parvoviridae
(Kilham rat)

ENVELOPED

dsDNA

Poxviridae
(Vaccinia)

Herpesviridae
(Herpes simplex)

ssRNA

Paramyxoviridae
(Measles)

Orthomyxoviridae
(Influenza)

Rhabdoviridae
(Vesicular stomatitis)

Retroviridae
(Rous sarcoma)

Arenaviridae
(Lymphocytic choriomeningitis)

Coronaviridae
(Avian infectious bronchitis)

Bunyaviridae
(Bunyamwera)

Togaviridae
(Sindbis)

جدول ١٥ـ٣ : قائمة العائلات ومجموعات الفيروسات وخواصها الأساسية والعوائل التى تصيبها

الخواص الأساسية Characterization	العائلة أو المجموعة Families or groups	العائل Kind of Host
أولا : فيروسات مغلفة (ذات غلاف) تحتوى على حامض أوكسى ريبو نيوكليك مزدوج السلسلة ds DNA enveloped viruses	Pox viridae بوكسفريدى	Vertebrates فقاريات
		Invertibrates لا فقاريات
	Herpes viridae هربسفريدى	Vertebrates فقاريات
	Baculoviridae باسيلوفريدى	Invertebrate لا فقاريات
	Plasmoviridae بلازموفريدى	Bacteria بكتيريا
ثانيا : فيروسات معراة (بدون غلاف) تحتوى على حامض دى أوكسى ريبو نيوكليك مزدوج السلسلة ds DNA,nonenveloped viruses	Iridoviridae* اريدوفريدى	فقاريات ولا فقاريات
	Adenoviridae ادينوفريدى	Vertebrates فقاريات
	Papovaviridae بابوفافريدى	.. فقاريات
	Caulimovirus كاليموفيروس	Plants نباتات
فاج بدون ذيل	Tectiviridae تكتيفريدى	Bacteria بكتيريا
	Co ticoviridae كورتيكوفريدى	Bacteria بكتيريا
فاج ذو ذيل	Myoviridae ميوفريدى	Bacteria بكتيريا
	Styloviridae ستايلوفريدى	Bacteria بكتيريا
	Podoviridae بودوفريدى	Bacteria بكتيريا
ثالثا : فيروسات معراه (بدون غلاف) تحتوى على حامض دى أوكسى ريبو مفرد السلسلة . ss DNA, nonenveloped viruses	Parvoviridae بارفو فريدى	فقاريات ولا فقاريات
	Germinivirus جيمنيفيروس	نباتات
	Microviridae ميكروفريدى	بكتيريا
	Inoviridae اينوفريدى	بكتيريا

* تحتوى بعض الفيروسات التابعة لـ اريدوفريدى على غلاف خارجى ناتج من الغشاء الخلوى للعائل .

تابع جدول ١٥ــ٣ : قائمة العائلات ومجموعات الفيروســـات وخواصها الأساسية والعوائل التى تصيبها

الخواص الأساسية	العائلة أو المجموعة	العائل
رابعا : فيروسات مغلفة تحتوى على حامض ريبونيوكلييك مــــزدوج السلسلة ds RNA, enveloned viruses	سيستوفريدى Cystoviridae	بكتيريا
خامسا : فيروسات معراه تحتوى على حامض ريبونيوكلييك مــــزدوج السلسلة ds RNA non enveloped viruses	(١) ريوفريدى Reoviridae	فقاريات واللافقاريات
	(٢) عائلة ممكنة (Possible family) تصيب الفطريات وتحتاج الى قطعـــة واحدة من الحمض النووى ريبونيـــو كلييك التضاعف .	فطريات
	(٣) عائلة ممكنة تصيب الفطريـــــات وتحتاج لقطعتين من الحمض النـــووى ريبونيوكلييك التضاعف .	فطريات
	(٤) عائلة ممكنة : تصيب الفطريــــات وتحتاج الى ثلاث قطع من الحمـــض النووى ريبونيوكلييك التضاعف .	فطريات
	(٥) عائلة ممكنة تصيب الفقاريــــات واللافقاريات وبها قطعتين حمض ريبونيوكلييك مزدوج السلسلة .	فقاريات ولافقاريات
سادسا : فيروسات مغلفة تحتوى على حامض ريبونيوكلييك مفـــرد السلسلة : أ ــ بدون خطوة تكوين DNA كمرحلة وسطية فى التضاعف (التضاعف يتم عن RNA مباشرة)	ss-RNA enveloped viruses	
١ ــ المادة الوراثية هى السلسلة الموجبـــــــــ Positive sense genome	(١) توجافريدى Togaviridae	فقاريات واللافقاريات
	(٢) كورونافريدى Coronaviridae	فقاريات
٢ ــ المادة الوراثية للفيروس هى السلسلة السالبة Negative sense genome	(١) باراميكسوفريدى Paramyxoviridae	فقاريات
	(٢) آرثوميكسوفريدى Orthomyxoviridae	فقاريات

ل

تابع جدول ١٥ـ٣ : قائمة العائلات ومجموعات الفيروسات وخواصها الأساسية والعوائل التى تصيبها

الخواص الأساسية	العائلة أو المجموعة	العائل
	(٣) رابدوفريدى Rabdoviridae	فقاريات ولافقاريات ونباتات
	(٤) بونيفريدى Bunyaviridae	فقاريات ولافقاريات
	(٥) ارينافريدى Arenaviridae	فقاريات
٣ ـ غير محددة بعد not established	(٦) عائلة ممكنة ـ فيروسات تبقع الطماطم	نباتات
ب ـ فيروسات يتكون بها DNA كخطوة وسطية لتكوين RNA اثناء التضاعف .	(١) رتروفريدى Retroviridae	فقاريات
سابعا : فيروسات معراة تحتوى على حامض ريبونيوكليك وحيد السلسلة ss-RNA, noneveloped viruses		
أ ـ المادة الوراثية لطعة واحدة Monopartite genome		
١ ـ فيروسات متماثلة المحاور . Isometric	بيكورنافريدى Picornaviridae	فقاريات ولافقاريات
	كاليسيفر يدى Caliciviridae	فقاريات
	نودوريليابابيتا Nudaurelia β virus	لا فقاريات
	ليفيفريدى Leviviridae	بكتيريا
	مجموعة فيروسات التقزم الشاحب فى الذرة Maize chlorotic dwarf virus group	نباتات
	فيروس تايمو Tymovirus	نباتات
	فيروس لوتيو Luteovirus	نباتات
	فيروس تومبوس Tombusvirus	نباتات
	فيروس سوبيمو Sobemovirus	نباتات
	مجموعة فيروس تنخر الدخان Tobacco Necrosis virus group	نباتات
٢ ـ فيروسات عصوية	فيروس كلوسترو Closterovirus	نباتات
	فيروس كارلا Carlavirus	نباتات
	فيروس بوتى Potyvirus	نباتات

تابع جدول ١٥ـ٣ : قائمة العائلات ومجموعات الفيروسات وخواصها الأساسية والعوائل التى تصيبها

الخواص الأساسية	العائلة أو المجموعة	العائل
	فيروس بوتكس Potexvirus	نباتات
	فيروس توبامو Tobamovirus	نباتات
ب ـ المادة الوراثية لقطعتين Bipartite genome		
١ ـ فيروسات متماثلة المحاور Isometric particles	فيروس داينثو Dianthovirus	نباتات
	فيروس كومو Comovirus	نباتات
	فيروس نيبو Nepovirus	نباتات
	مجموعة فيروسات تبرقش البسلة Pea enation mosaic virus group	نباتات
	نودافريدى Nodaviridae	نباتات
	مجموعة ممكنة possible group تسبب التبقع الطفيفى فى الدخان Velvet tobacco mottle virus group	نباتات
٢ ـ فيروسات ذات شكل عصوى Rod-shaped viruses	فيروس توبرا Tobravirus	نباتات
جـ ـ المادة الوراثية ثلاث قطع Tripartite genome		
١ ـ فيروسات متماثلة المحاور Isometric	فيروس كيوكومو Cucumovirus	نباتات
	فيروس برومو Bromovirus	نباتات
	فيروس إلار Ilarvirus	نباتات
٢ ـ فيروسات متماثلة المحاور وعصوية الشكل Isometric and baciliform particles	فيروس تبرقش البرسيم الحجازى Alfalfa mosaic virus group	نباتات
٣ ـ فيروسات عصوية Rod-shaped viruses	فيروس هوردى Hordeivirus	نباتات

يلاحظ من الجدول أن أسماء العائلات تنتهى دائما بالمقطع فريدى Viridae، أما أسماء المجموعة فتنتهى بالمقطع فيروس virus وذلك فى التسمية الدولية. ولكثير من هذه العائلات والمجموعات أسماء انجليزية مرادفة شائعة، فعائلة كاليسيفريدى (وهذا هو اسمها الدولى) تعرف فى الانجليزية بعائلة Calicivirus family.

وقد قامت اللجنة الدولية لتقسيم الفيروسات ICTV بتقسيم هذه العائلات التى تحت عائلات sub-families وينتهى اسم تحت العائلة بالمقطع فيرينى virinae. ثم قسمت كل تحت عائلة الى أجناس genera ثم حدد اسم النوع المميز لهذا الجنس Type species سواء وجدت أفراد تابعة لنفس الجنس أم لا. وقد وضعت العائلات وتحت العائلات والأجناس ممثلة بالنوع الممثل وصفا دقيقا ليكون مرجعا للعاملين فى مجال علم الفيروسات، وعلى سبيل المثال نوضح تقسيم عائلة بوكسفريدي Poxviridae :

عائلة بوكسفريدى (الجدرى) Family Poxviridae

تحت عائلة : فيروسات جدرى الفقاريات sub-family: Chodopoxvirinae

جنس ١ : فيروسات الجدرى العادية Genus 1. Orthopoxvirus

النوع الممثل : فيروس الفاكسينيا Type species: Vaccinia virus

ويوجد سبعة أفراد أخرى فى نفس الجنس.

جنس ٢ : شبيهة فيروسات الجدرى Genus 2. Parapoxvirus

النوع الممثل : فيروس الأورف Type species: Orf virus

ويوجد ثلاثة أفراد فى نفس الجنس.

جنس ٣ : مجموعة فيروسات جدرى الطيور Genus 3. Avipoxvirus

النوع الممثل : فيروس جدرى الدجاج Type species: Fowlpoxvirus

ويوجد سبعة أفراد أخرى فى نفس الجنس.

جنس ٤ : مجموعة فيروسات جدرى الضأن Genus 4. Capripoxvirus

النوع الممثل : فيروس جدرى الأغنام Type species: Sheep Poxvirus

ويوجد فردين آخرين فى نفس الجنس.

جنس ٥ : مجموعة فيروسات جدرى الحيوانات البرية الصغيرة.

Genus 5. Leporipoxvirus.

النوع الممثل : فيروس ميكسوما (جدرى الأرانب) Type species: Myxoma virus

جنس ٦ : مجموعة فيروسات الخنازير Genus 6. Suipoxvirus

النوع الممثل : فيروس جدرى الخنزير Type species: Suinepoxvirus

ولا يوجد أفراد أخرى معروفة تابعة لهذا الجنس.

تحت عائلة : فيروسات جدرى الحشرات:

: Sub-family Entomopoxvirinae

وهكذا تقسم تحت عائلة فيروسات جدرى الحشرات الى أجناس ... وهكذا ...

ويجب الاشارة الى أنه ورد ذكر عائلات ممكنة فى أماكن محددة من الجدول (١٥ـ٣) لتوضيح أنه لم تتم تسمية عائلة فيروسية فى ذلك الموقع. وأنه قد توفرت معلومات تقسيمية تشير الى امكانية انشاء عائلات فى تلك المواقع من الجدول المذكور.

ثانيًا : تسمية الفيروسات

لقد حاول الكثير من الباحثين ايجاد نظام لتسمية الفيروسات لتسهيل دراستها. الا أن قلة المعلومات المتوفرة عن الفيروسات كانت دائما العقبة التى تحول دون ذلك. وقد بدأت تلك المحاولات منذ الأيام الأولى لاكتشاف الفيروسات ، فكانت تسمية الفيروسات تتبع العائل المصاب، مع ذكر نوع الاصابة . ففى حالة اصابة نبات الدخان بفيروس يذكر اسم الفيروس كالتالى : فيروس موزايك (تبرقش) الدخان Tobacco mosaic virus، وبالمثل مع الطماطم مثل فيروس التبقع الحلقى فى الطماطم Tomato ringspot virus وفيروس اصفرار بنجر السكر Sugar beet yellow virus.

وكان جونسون عام ١٩٢٧ أول من قام بمحاولة تسمية الفيروسات

بالنسبة لأول عائل يكشف عليه الفيروس أو بالنسبة لأهم عائل يصيبه ويعطى الفيروس رقما مسلسلا حتى تأخذ الأمراض الفيروسية التى تكتشف فى المستقبل على نفس العائل باقى الأرقام المسلسلة ... فمثلا موزايك الفاصوليا أطلق عليه Bean virus 1 وهكذا ... وقد عدل هذا النظام بأن وضع بعد تلك الأرقام حروف هجائية لسلالات الفيروس الواحد. وقد ثبت صعوبة هذا النظام بعد اكتشاف كثير من الفيروسات على العائل الواحد مما يجعل من الصعب ربط الفيروسات بالأرقام وتذكرها ، كما أن هذه الطريقة فى التسمية لم تعطى أى فكرة عن تأثير الفيروس على العائل ... كما أنه فى بعض الحالات تكون هذه الطريقة فى التسمية غير مجدية ... اذ أن فيروسين مختلفين يسببان أعراضا متشابهة على نفس العائل قد يأخذان أرقاما متباعدة تبعا لاكتشاف احدهما أولا ثم اكتشاف أمراض فيروسية أخرى على نفس العائل ، ثم اكتشاف الفيروس الثانى . وبذلك لا نجد أى ارتباط بين هذين الفيروسين ولو أنهما متشابهان بالنسبة للأمراض التى تحدثها فى العائل .

وقد نشر سميث Smith عام ١٩٣٧ م فى انجلترا كتابا استخدم فيه طريقة جونسون Johnson فى التسمية ... الا أنه استخدم الاسم اللاتينى للجنس فى التسمية يتبعه رقم الفيروس مثل Prunus virus 2, Nicotiana virus 1 ... وهكذا بدلا من الاسم العام كما استخدمه جونسون .

وقد قام هولمز Holmes عام ١٩٣٩ بتسمية فيروسات النبات بالطريقة المتبعة فى تسمية الكائنات الراقية ، وفى عام ١٩٤٨ م استخدم نفس الطريقة لتسمية فيروسات الحيوان . واقترح تكوين مملكة الفيروسات ... وتنقسم الى قسمين هما :

فيروسات النبات phytophagi ، وفيروسات الحيوان Zoophagi وكل منهما ينقسم الى صفوف وعائلات وأجناس ، وكل فيروس له اسم لاتينى مكون من الجنس والصنف . وكان أساس هذا التقسيم هو الأعراض التى تظهر على العائل ، فمثلا وضعت جميع الفيروسات التى تسبب التبرقش (الموزايك) تحت عائلة واحدة أطلق عليها الموزايك Marmoraceae ، والفيروسات

التى تسبب بقع (نقط) حلقية Ringspots تحت عائلة واحدة -Annul aceae ... وهكذا فيسمى فيروس تبرقش الدخان Tobacco Mosaic Virus باسم Marmor tabaci وسمى فيروس قصب السكر Sugar-cane mos-aic virus باسم Marmor sacchari وهكذا ...

وحيث أن هذا التصنيف يعتمد اعتمادا كليا على الأعراض التى تسببها الفيروسات وحيث أن أعراض الأمراض الفيروسية تتأثر بالضوء والحرارة والعائل الذى يصيبه الفيروس ، فان هذه الطريقة فى التقسيم يعاب عليها امكانية نقل بعض الفيروسات من عائلة لأخرى لاختلاف الأعراض تحت الظروف البيئية المختلفة .

وأحدث طريقة لتسمية الفيروسات هى الطريقة التى اقترحها جيبس Gibbs عام ١٩٦٦ ، والتعديلات التى أدخلت عليها فيما بعد حتى عام ١٩٧٣. فقد اقترح جيبس عام ١٩٦٦ ، وعام ١٩٧٣ نظاما لتسمية وتصنيف الفيروسات يعتمد على الأسس التى اتبعها أدانسون Adanson عام ١٧٦٣م فى تصنيف النباتات والتى بموجبها تصنف الكائنات الى مجاميع تتشابه فيها أفراد كل مجموعة بأكبر عدد ممكن من الخصائص مع بعضها البعض بدون تفضيل أية خاصية على أخرى .

وعلى هذا الأساس فان تصنيف الفيروسات يعتمد كليا على ما يتوفر من المعلومات عن خصائص الفيروسات المسماة وسلالاتها ، وكلما كانت هذه المعلومات أوسع كلما كان التصنيف أدق وأنفع .

وقد اتفق معظم الباحثين فى مجال علم الفيروسات على نوعين من التقسيمات التصنيفية وهى أن :

١) السلالات الفيروسية : وهى العزلات التى تختلف بأقل عدد من الخصائص.

٢) المجموعة الفيروسية : وهى الفيروسات التى تتشابه بأكبر عدد من الخصائص.

ويعطى لكل مجموعة اسم ثابت يسهل التخاطب والتعامل بين الباحثين في علوم الفيروسات . ويكون هذا التصنيف متناظر مع النوع (species) والجنس (Genus) في التصنيف المتبع في الكائنات الراقية . وبموجب النظام الذى اقترحه Gibbs وطوره آخرون يعطى للفيروس الاسم الانجليزى الشائع متبوعا بمجموعة من الرموز التى تعتبر بمثابة شفرة ، ويسمى بالكريتوجرام Cryptogram الذى يعبر عن أهم خصائص الفيروس ، وتتكون من أربعة أزواج من الرموز مرتبة حسب نظام ثابت.

وكمثال لأحد الفيروسات النباتية نجد أن الكريتوجرام لفيروس موزايك الدخان (TMV) Tobacco mosaic virus كمايلى :

$$TMV = \frac{R}{1} : \frac{2}{5} : \frac{E}{E} : \frac{S}{0}$$

الزوج الأول = $\frac{R}{1}$ = نوع الحمض النووى / طبيعة الحمض النووى

نوع الحمض النووى : DNA = D , RNA = R

وطبيعة الحمض النووى : ١ = أحادى السلسلة .

٢ = ثنائى السلسلة .

الزوج الثانى = $\frac{2}{5}$ = الوزن الجزيئى للحمض النووى (بالمليون دالتون) / النسبة المئوية للحمض النووى فى جسيم الفيروس الفعال

الزوج الثالث = $\frac{E}{E}$ = شكل جسيمة الفيروس / شكل النيوكليوكابسد

الرموز المستعملة لكلا الصفتين :

S= Essentially spherical كروية بصفة أساسية

E= Elongated with parallel sides, ends not rounded

متطاولة ومتوازية الجوانب ولكن نهاياتها غير مستديرة .

U= Elongated with parallel sides, ends (S) rounded

متطاولة ومتوازية الجوانب ولكن نهايتها أو نهاياتها مستديرة

X= Comlex معقد الشكل

or non of the above أو لا ينطبق عليه ما سبق وصفه .

الزوج الرابع : $\frac{S}{U}$ = $\frac{\text{نوع العائل}}{\text{نوع الناقل}}$

الرموز المستعملة لأنواع العوائل :

A= Algae	طحالب (آشنات)
I= Invertebrate	لافقريات
P= Pteridophyte	السرخسيات
V= Vertebrate	فقريات
B= Bacteria	بكتيريا
F= Fungus	فطر
M= Mycoplasma	ميكوبلازما
S= Seed plant	نبات بذرى

الرموز المستعملة لأنواع الناقلات:

Ac=(Acarina), Acachnida(mite & tick) العنكبوت والقراد

Al= Aleyrodidae (White fly) حشرة الذباب الأبيض

AP= Aphidade (Aphid) حشرة المن

Au= Auchenorrhyncha (Leaf, plant or tree-hopper)

حشرة النطاط (القفاز)

البق الدقيقي Cc= Coccidae(Mealy-bug)
الخنافس Cl= Coleoptra (beetle)
الذباب والبعوض Di= Diptera (Fly and Mosquito)
فطريات Fu = Fungi
الديدان الثعبانية Ne= Nematoda (Nematode)
بسيلا Ps= Psyllidae (Psylla)
البرغوث Si= Siphonoptera (Flea)
التربس Th= Thysanoptera (Thrips)
الناقل معروف ولكنه غير مذكور =Ve
ينتشر بدون ناقل ، عن طريق البيئة الملوثة =O

وفيما يلى بعض الرموز التى تستعمل فى أى من الأزواج المذكورة

= خاصية الفيروس غير معروفة
( ) = المعلومات المحصورة بين القوسين مشكوك فيها أو غير مؤكدة ·
[ ] = مجموعة الرموز المحصورة بين القوسين تبين معلومات عن مجموعة فيروسية وليس فيروس واحد ·

وقد شكلت اللجنة الدولية لتسمية الفيروسات فى عام ١٩٦٦
International Committee on Nomenclature of viruses(ICNV)

لجنة فرعية لفيروسات النبات لوضع نظام لتصنيف فيروسات النبات· وقامت اللجنة المذكورة باعداد دراسة خلال الأعوام ١٩٦٦ - ١٩٧٠م ·وفى عام ١٩٧١م اشترك معظم أعضاء اللجنة فى نشر نتائج دراستها التى تضمنت تصنيف الفيروسات الى مجاميع على أساس تشابه أفراد كل مجموعة لعدة خصائص تبلغ حوالى ٥٠ صفة مثبتة مسبقا مثل : تصرف الفيروس داخل العائل النباتى ، علاقة الفيروس بالكائنات الأخرى الناقلة ، خصائص جسيمة الفيروس ، التركيب الكيماوى لجسيمة الفيروس·

وعرفت " المجموعة الفيروسية " بأنها مجموعة فيروسات أو سلالاتها التى كلا منها يشترك مع الفيروس الذى يمثل المجموعة بكل أو معظم

الخصائص التى تتميز بها تلك المجموعة . وقد تم اشتقاق اسم المجموعة من مختصرات الاسم الشائع للفيروس الممثل لتلك المجموعة ، ووضعت لها رموز الكريبتوجرام Cryptogram للفيروس الممثل للمجموعة ، وبلغ عدد المجاميع الفيروسية التى ذكرت (١٦) مجموعة كما فى الجدول (١٥ــ٤)

جدول ١٥ــ٤ : مجاميع فيروسات النبات والفيروس الممثل لكل مجموعة والكريبتوجرام الخاص بـــه

No.	اسم المجموعة الفيروسية	الفيروس الممثل للمجموعة	الكريبتوجرام للفيروس الممثل للمجموعة
1	Tobravirus Group	Tobacco rattle virus	$\frac{R}{1} : (\frac{2.3}{5} + \frac{0.9}{5}) : \frac{E}{E} : \frac{S}{Ne}$
2.	Tobamovirus Group	Tobacco Mosaic virus	$\frac{R}{1} : \frac{2}{5} : \frac{E}{E} : \frac{S}{O}$
3.	Potexvirus Group	Potato virus X	$\frac{R}{1} : \frac{2.1}{6} : \frac{E}{E} : \frac{S}{Fu,O}$
4.	Carlavirus Group	Carnation Latent virus	$\frac{R}{1} : \frac{*}{6} : \frac{E}{E} : \frac{S}{Ap}$
5	Potyvirus Group	Potato Virus Y	$\frac{*}{*} : \frac{*}{*} : \frac{E}{E} : \frac{S}{Ap}$
6.	Cucumovirus Group	Cucumber Mosaic Virus	$\frac{R}{1} : \frac{1}{18} : \frac{S}{S} : \frac{S}{Ap}$
7.	Tymovirus Gtoup	Turnip yellow Mosaic Virus	$\frac{R}{1} : \frac{1.9}{34} : \frac{S}{S} : \frac{S}{Cl}$
8.	Comovirus Group	Cowpea Mosaic Virus	$\frac{R}{1} : \frac{1.5}{24} : \frac{2.6}{33} : \frac{S}{S} , \frac{S}{Cl}$
9.	Nepovirus Group	Tobacco ringspot virus	$\frac{R}{1} : \frac{2.2}{40} : \frac{S}{S} : \frac{S}{Ne}$
10.	Bromovirus Group	Brome Mosaic Virus	$\frac{R}{1} : \frac{1}{22} : \frac{S}{S} : \frac{S}{(Ne)}$
11.	Tombusvirus Group	Tomato bushy stunt virus	$\frac{R}{1} : \frac{1.5}{17} : \frac{S}{S} : \frac{S}{*}$
1.	Caulimovirus Group	Cauliflower Mosaic Virus	$\frac{D}{2} : \frac{4.5}{16} : \frac{S}{S} : \frac{S}{Ap}$
13'	Alfalfa Mosaic Virus	Alfalfa Mosaic Virus	$\frac{R}{1} : (\frac{1.3}{18} + \frac{1.1}{18} + \frac{0.9}{18} + \frac{0.3}{18}) : \frac{U}{U} : \frac{S}{Ap}$
14.	Pea Enation Mosaic Virus	Pea enation mosaic virus	$\frac{R}{1} : \frac{*}{29} : \frac{S}{S} : \frac{S}{Ap}$
15.	Tobacco Necrosis Virus	Tobacco Necrosis Virus	$\frac{R}{1} : \frac{1.5}{19} : \frac{S}{S} : \frac{S}{Fu}$
16.	Tomato spotted wilt Virus	Tomato spotted wilt virus	$\frac{R}{*} : \frac{*}{*} : \frac{S}{S} : \frac{S}{Th}$

ويلاحظ أن أحد نقاط الضعف فى هذا النظام هو عدم توفر المعلومات الكافية التى يتطلبها الكريبتوجرام للعديد من الفيروسات، وكذلك عدم شمول العلاقات المصلية بين الفيروسات ضمن الخصائص المثبتة. ولكن بالرغم من بعض نقاط الضعف الموجودة بنظام تصنيف وتسمية مجاميع الفيروسات المذكورة سابقا فانه أول عمل مرض لغالبية الباحثين ٠

ومن المتوقع أن يتطور بخطوات لاحقة كلما توفرت معلومات أكثر عن فيروسات النبات٠

وكمثال لأحد الفيروسات الحيوانية فان الكريبتوجرام لفيروس اللسان الأزرق كما يلى :

$$\text{Blue Tongue virus} = \frac{R}{2} : \frac{12}{*} : \frac{S}{S} \quad \frac{I\ ,\ V}{Ve/Ac,Di}$$

ووفقا لما سبق شرحه ، فان هذا الكريبتوجرام يعنى أن فيروس اللسان الأزرق يحتوى على الحمض النووى رنأ مزدوج السلسلة (ds RNA) وأن الحمض النووى مجزأ الى اثنى عشر قطعة ووزنه الجزيئى ١٢ مليون دالتون ، والنسبة المئوية للحمض النووى فى جسيمة الفيروس الفعال غير معروفة ، وأن شكل كلا من جسيمة الفيروس والنيوكليو كابسيد كروي S وأن نوع العائل فقاريات (V) ولافقاريات (I) وأن نوع الناقل تتم بواسطة العنكبوت والقراد (AC) وكذلك بواسطة الحشرات التابعة ل (Di) مثل الذباب والبعوض ، كما أنه يوجد وسائل نقل اخرى معروفة ، ولكن غير مذكورة (Ve) ...

هذا ... وقد شكلت اللجنة الدولية لتسمية الفيروسات (ICNV) فى عام ١٩٦٦ لجنة فرعية لفيروسات الحيوان أيضا لوضع نظام لتصنيف فيروسات الحيوان٠

وقد قامت اللجنة المذكورة بتقسيم فيروسات الحيوان الى ثمانية عشرة مجموعة كما هى موضحة فى الجدول (١٥ـ٥) ...

جدول ١٥ـ٥ : عائلات فيروسات الحيوان والفيـروس الممثل لكل مجموعة مع الكريبتوجرام الخـاص بـه .

اسم العائلة الفيروسية	الفيروس الممثل للعائلة	الكريبتوجرام للفيروس الممثل للمجموعة
1. Parvoviridae	Parvovirus	$\frac{D}{1} : \frac{1.5\text{-}1.8}{26} : \frac{S}{S} : \frac{V}{C,I,O}$
2. Papovaviridae	Papilloma virus	$\frac{D}{2} : \frac{5}{12} : \frac{S}{S} : \frac{V}{O,Ve/Ac,Si}$
	Polyoma virus	$\frac{D}{2} : \frac{3}{12} : \frac{S}{S} : \frac{V}{O}$
3. Adenoviridae	Mastadenovirus	$\frac{D}{2} : \frac{20\text{-}25}{12\text{-}14} : \frac{S}{S} : \frac{V}{I,O,R}$
	Aviadenovirus	$\frac{D}{2} : \frac{30}{17} : \frac{S}{S} : \frac{V}{I,R}$
4. Herperviridae	Alpha, Beta, Gamma herpesviruses	$\frac{D}{2} : \frac{92\text{-}102}{8.5} : \frac{Se}{S} : \frac{(F)(I)V}{C,O,R}$
5. Iridoviridae	Iridovirus	$\frac{D}{2} : \frac{130}{15\text{-}20} : \frac{S}{S} : \frac{I}{I}$
6. Poxviridae	Orthopoxvirus	$\frac{D}{2} , \frac{150}{5} \quad \frac{X}{*} : \frac{V}{O,R}$
	Avipoxvirus	$\frac{D}{2} \quad \frac{200}{5} . \frac{X}{*} : \frac{V}{O,R,Ve/Ac,Di,Si}$
<u>II RNA Viruses</u>		
7. Picornaviridae	Entrovirus	$\frac{R}{1} : \frac{2.5}{30} : \frac{S}{S} : \frac{I,V}{I,O,R}$
8. Caliciviridae	Calicivirus	$\frac{R}{1} \quad \frac{2.6\text{-}2.7}{18\text{-}22} : \frac{S}{S} : \frac{V}{I,R}$
9. Togaviridae	Rubivirus	$\frac{R}{1} : \frac{3.5}{*} : \quad \frac{Se}{S} : \frac{V}{C,R}$
10. Reoviridae	Reovirus	$\frac{R}{2} : \frac{\Sigma 14 - \Sigma 15}{15} : \frac{S}{S} : \frac{V}{I,O}$
11. Arenaviridae	Arenavirus	$\frac{R}{1} : \frac{\Sigma 3.2 - \Sigma 5.6}{*} : \frac{Se}{*} : \frac{V}{C,O}$
12. Coronaviridae	Coronavirus	$\frac{R}{1} : \frac{9}{*} : \frac{Se}{E} : \frac{V}{I,R}$

تابع جدول ١٥ــ٥ : عائلات فيروسات الحيوان والفيروس الممثل لكل مجموعة مع الكريتوجرام الخــاص به .

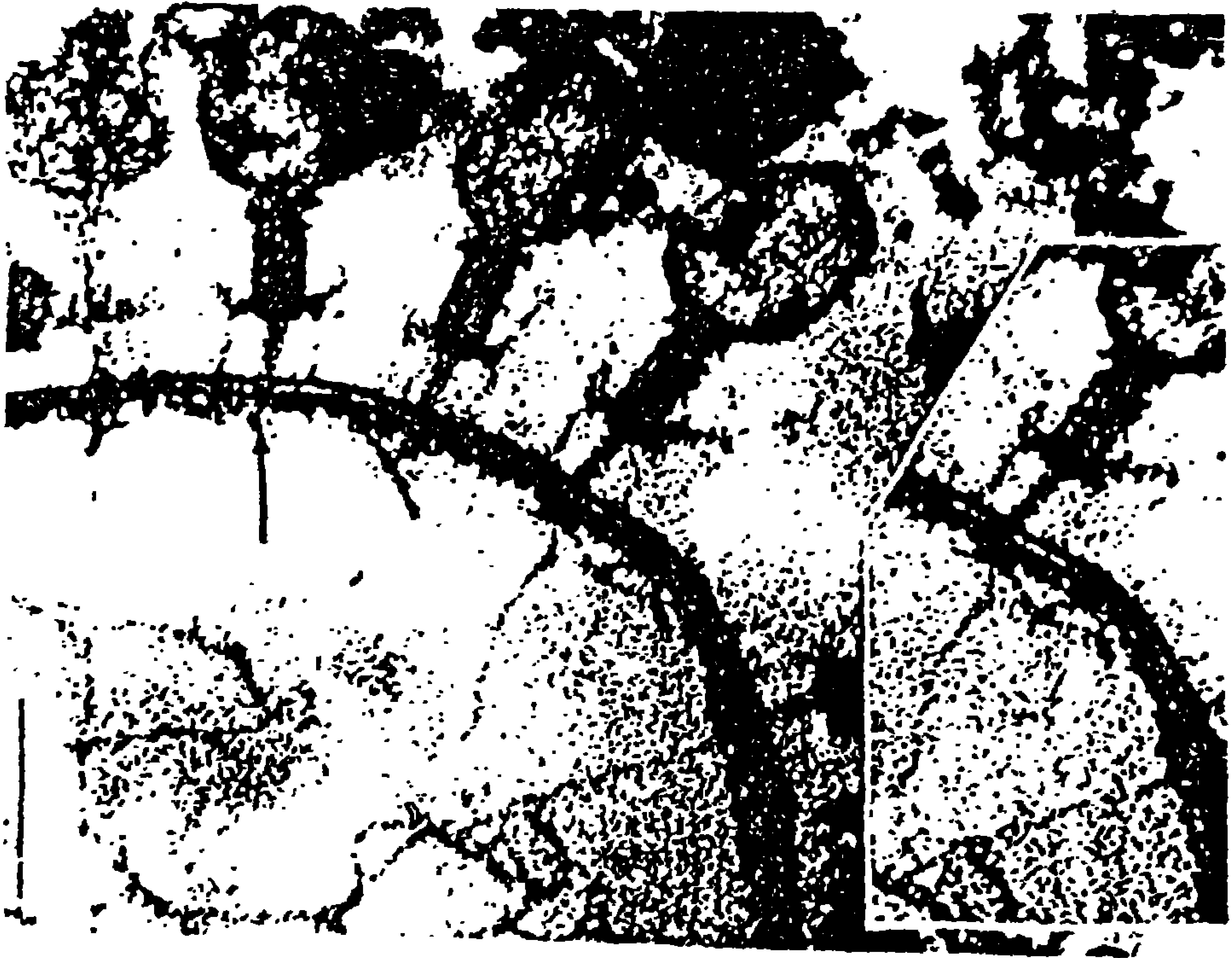
اسم العائلة الفيروســية	الفيروس الممثل للعائلة	الكريبتوجرام للفيروس الممثل للمجموعة
13. Bunyaviridae	Bunyavirus	$\frac{R}{1} \frac{\Sigma 6}{*} : \frac{Se}{E} : \frac{V}{C,Ve/Ac,Di}$
14. Orthomyxoviridae	Influenzavirus	$\frac{R}{1} : \frac{\Sigma 4}{1} : \frac{Se}{E} : \frac{V}{R}$
15. Paramyxoviridae	Paramyxovirus	$\frac{R}{1} : \frac{5-8}{1} : \frac{Se}{E} : \frac{V}{O,R}$
'6. Rhabdoviridae	Lussa virus	$\frac{R}{1} : \frac{4.6}{1} : \frac{Ue}{E} : \frac{I,V}{O,Ve/Di}$
17. Retroviridae	Oncovirus, Type C	$\frac{R}{1} : \frac{7}{2} : \frac{Se}{*} : \frac{V}{C,O}$
	Type B	$\frac{R}{1} \frac{10-12}{0.8} \frac{Se}{1^*} \frac{V}{C,I}$
18. Unclassified viruses	Borna diseases	Unknown
	Scrapie disease	"
	Brusal disease	"

الباب السادس

الفيروسات البكتيرية (الفاج)

الفصل السادس عشر : الفيروسات البكتيرية المضارية

الفصل السابع عشر : الفيروسات البكتيرية المعتدلة



الفصل السادس عشر

الفيروسات البكتيرية الضارية

Virulent Bacterial Viruses

ان معظم ما نعرفه اليوم عن الفيروسات بصفة عامة جاء نتيجة دراسة الفيروسات البكتيرية والتى اكتشفت لأول مرة بواسطة كلا من العالم الانجليزى تورت F. W. Twort عام ١٩١٥م والعالم الكندى ديريل F. d'Herrelle فى عام ١٩١٧م ، وكلاهما كان يعمل مستقلا عن الآخر ... وقد اكتشف هذان العالمان أن البكتيريا (والكثير منها يسبب أمراضا للانسان والحيوان والنبات) قد تضار نتيجة لمرض مسبب عن فيروس قابل للترشيح خلال المرشحات البكتيرية . فقد وجد ديريل أنه عند اضافة قطعة صغيرة من براز شخص مريض بمرض الدوسنتاريا الى مرق اللحم ... ثم امرار هذا السائل خلال مرشح بكتيرى للتخلص من البكتيريا ، فان الراشح الرائق الخالى من أى خلايا بكتيرية منظورة كان يحتوى على عامل معين مجهول ذو قدرة واضحة على اذابة (تحلل) بكتيريا الدوسنتاريا . فعند اضافة مقدار ضئيل جدا من هذا الراشح الرائق الى مزرعة سائلة حديثة من بكتيريا الدوسنتاريا شديدة التعكير ، يؤدي الى اختفاء العكارة (وبالتالى اختفاء خلايا البكتيريا) فى خلال ساعات قليلة ، وسميت هذه الظاهرة باسم " ظاهرة تورت ـ ديريل " Twort-d'Herrelle phenomenon . ولوحظ أيضا انه اذا لامس هذا الراشح الرائق المحتوى على العامل المعين المجهول لطبقة مستمرة من بكتيريا الدوسنتاريا النامية على مستنبتات صلبة ، فانه تتكون بقع شفافة خالية من البكتيريا (تسمى بلاك plaque) وجمعها بلاكات (Plaques) مما يدل على اختفاء البكتيريا منها ، وقد اعتقد ديريل أن هذا العامل المجهول هو عبارة عن كائن حى أصغر من أن يرى بالمجهر وسماه آكل البكتيريا المعوية Bacteriophagium intestinalle . ثم عرف بعد ذلك أن هناك عوامل تلتهم أنواع أخرى من البكتيريا ، فاستخدم اللفظ بكتيريوفاج Bacteriophage أى آكل البكتيريا ، ثم اختصرت بعد ذلك للتسهيل ، فسميت الفيروسات البكتيرية باسم فاج Phage ، ويمكن

عد الفاج فى أى تخفيف فيه بعدد البلاكات (البقع) التى يكونها حجم معين من هذا التخفيف على سطح طبقة مستمرة من البكتيريا. والفاجات phages واسعة الانتشار فى الطبيعة ، فكل أنواع البكتيريا التى بحثت حتى الآن وجد أنها تعمل كعائل لنوع أو أكثر من الفاجات. ولكن معظم البحوث أجريت على الفاجات التى تهاجم بكتيريا القولون المعروفة علميا باسم ايشريشيا كولاى Escherichia coli وتعرف مثل هذه الفاجات باسم " كولى فاجات" Coliphages . والفاجات لا تختلف اختلافا كبيرا عن الفيروسات الأخرى . والاختلاف الأساسى بينها وبين الفيروسات الأخرى يرجع الى اختلاف العائل . فمن الناحية التركيبية ، فالفاجات مثل غيرها من الفيروسات تتكون أساسا من لب Core من أحد الأحماض النووية سواء دنأ DNA أو رنأ RNA مغطى بغطاء بروتينى وهو المحفظة ، وقد تحتوى بعض الفاجات علاوة على ذلك على ذيل مخصص لامتزاز Adsorption جزيء الفيروس الى سطح البكتيريا أو لحقن الحمض النووى داخل الخلية البكتيرية .

أهمية دراسة الفاجات :

تعتبر دراسة الفاجات على درجة كبيرة من الأهمية لأنها تمثل نموذجا من الفيروسات يمكن دراسته بسهولة ، وذلك لأن عوائل الفاجات هى البكتيريا ، وهى نوع من الأحياء يسهل تداوله فى المختبرات ، ويمكن تنميته تحت ظروف أكثر تحديدا ودقة من عوائل الفيروسات الأخرى مثل النبات والحيوان — وقد استفيد حديثا من دراسة الفيروسات البكتيرية بابتكار ما يعرف بمزارع الأنسجة Tissue cultures لدراسة كلا من الفيروسات النباتية والحيوانية .

الخواص العامة للفاجات :

تحتوى بعض الفاجات على دنأ DNA بينما تحتوى بعضها على رنأ RNA كمادة وراثية ، وفى معظم فاجات دنأ فان الحمض

النووى يكون مزدوج السلسلة ، ولكن توجد حالات قليلة يكون د ن أ مفرد السلسلة . أما معظم فاجات ر ن أ التى اكتشفت حتى الآن فهى تحتوى فى فيريوناتها على ر ن أ مفرد السلسلة .

جميع الفاجات المعروفة – فيما عدا مجموعة واحدة – يكون الحمض النووى للفريون معبأ داخل غطاء بروتينى ذو الشكل المتعدد الأوجه Icosahedral or polyhedral وفى كثير من هذه الفاجات المتعددة الأوجه يلحق بها ذيل ، والذى يعمل كعضو امتزاز ، والمجموعة المستثناة من الشكل العام للفاجات ، هى الفاجات ذات الشكل الخيطى filamentous أو العصوى Rod-shaped والتى يمثلها الفاج " اف دى " fd وهذا الفاج الأخير عصوى الشكل يحتوى على الحامض النووى د ن أ DNA مفرد السلسلة .

وتبدو الفاجات أكثر تخصصا لعوائلها عن الفيروسات الأخرى (النباتية أو الحيوانية) بصفة عامة . فبعض الفيروسات النباتية والحيوانية تصيب أكثر من نوع من العوائل ، أما الفاجات فهى عادة ما تصيب نوع واحد فقط من البكتيريا ، وان كان من الممكن أن يصيب عدد من الفيروسات نوعا واحدا من البكتيريا . ولكن لم يعرف حتى الآن أي فيروس بكتيرى يصيب النبات أو الحيوان ، كما انه لم يعرف حتى الآن فيروس نباتي أو حيواني يمكن أن يصيب أى بكتيريا .

ويمكن تقسيم الفاجات الى قسمين رئيسيين وهما :

ا – الفاجات الضارية : Virulent phages :

وهى فيروسات بكتيرية محللة lytic phages ، بمعنى أنه بمجرد غزوها للخلايا العائل فانها تبدأ مباشرة فى دورة التحلل Lytic cycle ، ومثل هذه الفيروسات البكتيرية لها طورين فقط وهما :

أ – الطور الخارجي extracellular : وهو عبارة عن جسيمات خاملة ليس لها أى نشاط أيض Metabolism أو قدرة على مضاعفة

نفسها Multiplication خارج خلية العائل In-vitro ،
وتسمى هذه الجسيمات فيريونات.

ب ـ الطور الداخلي Intracellular phase : وهو عبارة عن الصورة أو الحالة المتكاثرة Replicative form للفيروس داخل الخلية البكتيرية ، وتسمى الفاج الخضرى Vegetative phage.

ويتكون الطور الداخلي بعد امتزاز فيريون ما في مواقع متخصصة Receptor sites معدة لاستقبال هذا الفيريون على سطح الخلية العائل ، ويتم حقن الحمض النووى nucleic acid الفيروسى داخل خلية البكتيريا العائل . ويتم تضاعف الفيروسات داخل الخلية العائل في مراحل خمس هي :

١ ـ الاصابة Infection وتشمل امتزاز الفريون على سطح العائل وحقن الحمض النووى داخلها .
٢ ـ تكوين البروتينات المبكرة Early Proteins .
٣ ـ تضاعف Replication الحمض النووى الفيروسى .
٤ ـ تجميع جزئيات فيروسية جديدة Maturation
٥ ـ تحرر الفيروسات الجديدة Liberation of mature virions

وستناقش هذه الخطوات الخمس تحت عنوان (تضاعف الفاج) Multiplication of Bacteriophage فيما بعد .

ومن أكثر الفاجات الضارية دراسة ، هي مجموعة كولي فاج تي Coliphage T group والحرف تي يرمز للكلمة الانجليزية Type ومعناها بالعربية طراز ، وسنستعمل رمزا لها هنا تي للتسهيل ، ومجموعة كولي فاج تي ينتمي اليها سبعة فيروسات ، وتأخذ الأرقام المسلسلة تي ١ الى تي ٧ T_1 to T_7 . وفاجات تي ذات الأرقام المزدوجة على درجة كبيرة من التشابه ، لذلك فقد وضعت في مجموعة بمفردها ، وسميت فاجات تي ذات الأرقام المزدوجة Teven phages . وعندما تغزو أحد فيروسات تي بكتيريا القولون المعروفة ايشريشيا كولاى E. coli

فانه فى نهاية مرحلة تضاعف الفيروسات يتحرر من كل خلية عدد من الفيروسات الجديدة يتراوح بين ١٠٠ الى ٣٠٠ فيروس واحد. والفترة التى تنقضى بين غزو الخلية حتى انفجارها lysis تتراوح بين ١٥ـ الى ٤٠ دقيقة.

٢ـ الفاجات المعتدلة : Temprate phages

ولو أن هذه الفيروسات لها القدرة على تحليل البكتيريا العائل أيضا ، الا أن لها صفة أخرى تميزها عن المجموعة الأولى من الفيروسات. فالفاجات المعتدلة أحيانا لا تكون الاصابة بها من نوع الاصابة الضارية المحللة للبكتيريا ، حيث يقع الحمض النووى الفيروسى الذى يحقن داخل الخلية تحت سيطرة الخلية ، ويخضع لنظمها ، وتظل الخلية تعمل بصورة عادية تماما . وجزيء الحمض النووى الخاص بالفيروس الموجود داخل خلية بكتيرية والخاضع لنظمها يسمى الفاج الأولى (البروفاج Prophage ، ولا يسبب هذا الفاج الأولى اذابة الخلية البكتيرية ، وقد يظل جزيء الحمض النووى الفيروسى المذكور (الفاج الأولى) مستقلا بذاته داخل الخلية البكتيرية مشبها فى ذلك أيا من البلازميدات الخلوية Plasmids (البلازميد هى قطعة دنأ DNA غير كروموسومية توجد فى سيتوبلازم الخلية البكتيرية وتحمل صفات وراثية معينة مثل تلك البلازميدات المسئولة عن مقاومة بعض الخلايا لمركبات كيميائية معينة وبعض المضادات الحيوية) . وقد يندمج الفاج الأولى مع كروموسوم الخلية مكونا جزيء حلقى واحد من دنأ DNA مشتملا على كروموسوم الخلية الأصلى + دنأ الخاص بالفيروس ، وفى هذه الحالة الأخيرة فانه عند انفصال سلسلتى الكروموسوم تمهيدا لانقسام الخلية ، فان كل كروموسوم جديد يحتوى على نسخة من الحمض النووى الخاص بالفيروس . وبذلك تكون كل خلية من نسل الخلية الأم تحتوى على نسخة من الحمض النووى الخاص بالفيروس . وعند تحول الفاج الى فاج أولى Prophage فان الخلايا يقال لها أنها دخلت الدورة المولدة للاذابة ، أو الدورة اللايسوجينية Lysogenic cycle .

وبهذا فان الفاج الأولى المندمج مع كروموسوم الخلية يسلك سلوك احدى الوحدات الجينية للخلية ، وبذلك فان الفاج المعتدل لـــه القدرة على اكساب الخلية البكتيرية بعض صفات وراثية جديدة أو تبديـل بعضما بها من صفات وراثية . وأدى ذلك الى اكتشاف ظاهرتان مهمتان ، احداهما تعرف بنقل الصفات الوراثية عن طريق الفيروسات (النقـل بالحمل Transduction) ، والثانية تعرف باسم (التبديل الفاجـي Phage conversion) وسيتم مناقشتهما فيما بعد ...

وتعرف البكتيريا الحاوية لنسخة من الفاج الأولى Prophage باسم البكتيريا المولدة للاذابة (لايسوجينك Lysogenic bacteria).

فعند تعرض الخلايا التى تحتوى على الفاج الأولى (البكتيريـا ذات القدرة الكامنة على التحلل Lysogenic bacteria) لظروف بيئية معينة ، فان الفاج الأولى لا يلبث أن يأخذ بزمام الأمور فى الخليـة ويتولى السيطرة على جميع نشاطات الخلية لمضاعفة نفسه وبناء البروتينات الخاصة به متحولا بذلك من فاج أولى Prophage الى فاج خضـري Vegetative phage وتتحول البكتيريا من الحالة المولدة للاذابـة (الدورة اللايسوجينية Lysogenic cycle) الى دورة الاذابة أو التحلل Lytic cycle .

ويسلك بذلك سلوك الفاجات الضارية Lytic phages تماما الـى أن تتحرر الفيروسات الجديدة من الخلية التى تذوب أو تتحلل .

وبذلك فان الفاجات المعتدلة قد تكون موجودة فى أحـد ثلاث صور هـم :

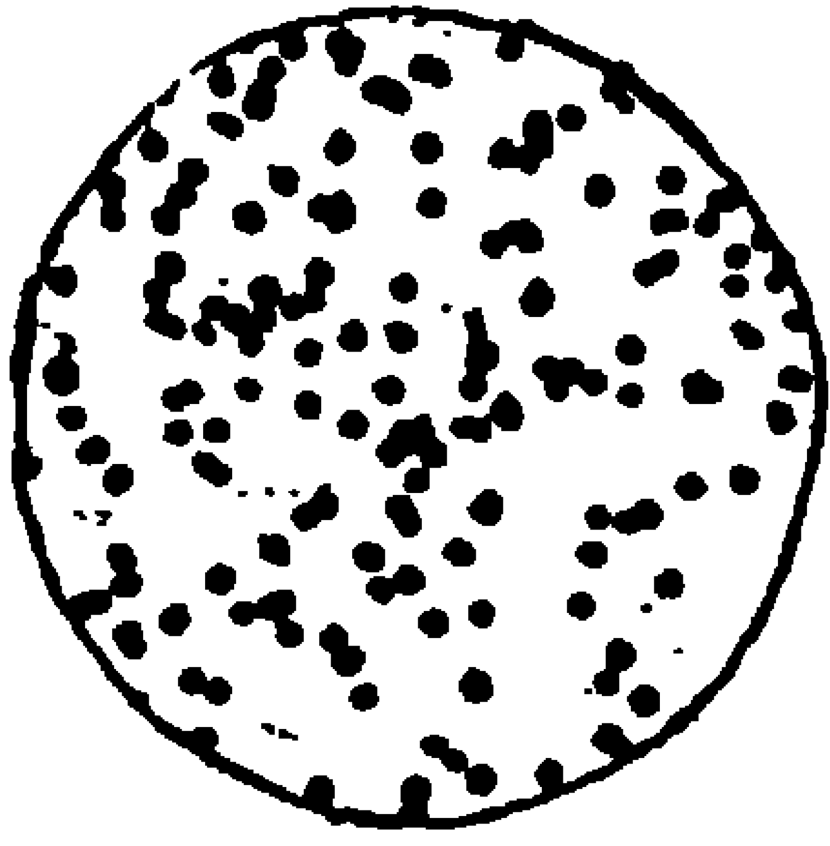
الفاج الأولى (البروفاج) أو الفاج الخضرى أو الفيريون virion أما الفاجات الضارية فهى لا توجد الا فى أحد صورتين هما الفـا الخضرى أو الفيريون كما سبق ذكره .

كشف واظهار الفاج :

عند اضافة عدد صغير من أحد جسيمات الفاجات الضارية لمزرعة سائلة تحتوى على البكتيريا الحساسة لهذا الفاج ، فان بعض خلايا المزرعة البكتيرية تصاب بجسيمات الفيروس التى أضيفت ، ولكن لا يلاحظ أى فرق فى المظهر بين الخلايا المصابة والخلايا الغير مصابة لفترة محدودة قد تمتد من (١٥) خمسة عشرة دقيقة الى ساعة كاملة على حسب طبيعة كلا من الفيروس والبكتيريا وظروف المزرعة ... وفجأة وبعض انقضاء هذه الفترة المحددة تنفجر الخلايا المصابة ليخرج منها عدد كبير من جسيمات الفاج الجديدة ٠

وجسيمات الفاج الجديدة هذه تبدأ غزوا جديدا لخلايا جديدة ، وتكرر نفس الدورة ٠ وبناء على ذلك فانه حتى عند اضافة عدد صغير من جسيمات الفاج الى مزرعة سائلة من بكتيريا حساسة نامية بأعداد كبيرة يؤدى الى فناء كل الخلايا البكتيرية فى خلال ساعات قليلة ٠

ومن السهل جدا تقدير عدد جسيمات الفاج أو الخلايا المصابة فى معلق ما ، وذلك بعمل التخفيف المناسب من هذا المعلق وتوزيعه على سطح (آجار) مستنبت مغذى صلب فى طبق بترى ملقح بعدد كثيف من البكتيريا الحساسة لهذا الفاج ... وبعد التحضين على الدرجة المناسبة يظهر سطح المستنبت المغذى الصلب مغطى بطبقة من البكتيريا فيما عدا نقط معينة تبدو شفافة ٠ وهذه النقط أو المناطق الشفافة Clearing zones تسمى بلاك plaque وجمعها بلاكات plaques (شكل ١٦-١) وهى تتكون نتيجة وجود فيروس ، أو خلية مصابة عند هذه النقط ٠ حيث يقوم الفيروس ونسله بتحليل الخلايا عند تلك النقط فتبدو شفافه أو خالية من الخلايا البكتيرية ٠ ويمكن عد هذه البلاكات plaques لمعرفة عدد جسيمات الفاج فى التخفيف المستعمل مثلها فى ذلك مثل عد مستعمرات البكتيريا على أطباق بترى المحتوية على مستنبت غذائى صلب٠



شكل ١٦-١ : بلاكات تكونت نتيجة لغزو فاج تى ٢ لبكتيريا القولون .

ويمكن بسهولة عزل الخلايا البكتيرية المصابة عن جسيمات الفيروس المراد عدها فى معلق ما وذلك بالطرد المركزى على سرعة مناسبة ، فتنفصل الخلايا مترسبة فى قاع أنبوبة الطرد المركزى ، بينما تبقى جسيمات الفيروس معلقة فى السائل ، ويمكن عدها بعد ذلك بالطريقة السابقة بعد عمل التخفيفات المناسبة ، كما يمكن أيضا التخلص من الخلايا المصابة فى معلق يحتوى على خلايا وجسيمات فاج ، وذلك برج المعلق مع نقط قليلة من الكلوروفورم . فالمعروف ان جسيمات الفاج تقاوم الكلوروفورم ولا تتأثر به ، أما الخلايا البكتيرية فتقتلها المعاملة بالكلوروفورم .

عزل وتنقية الفاج :

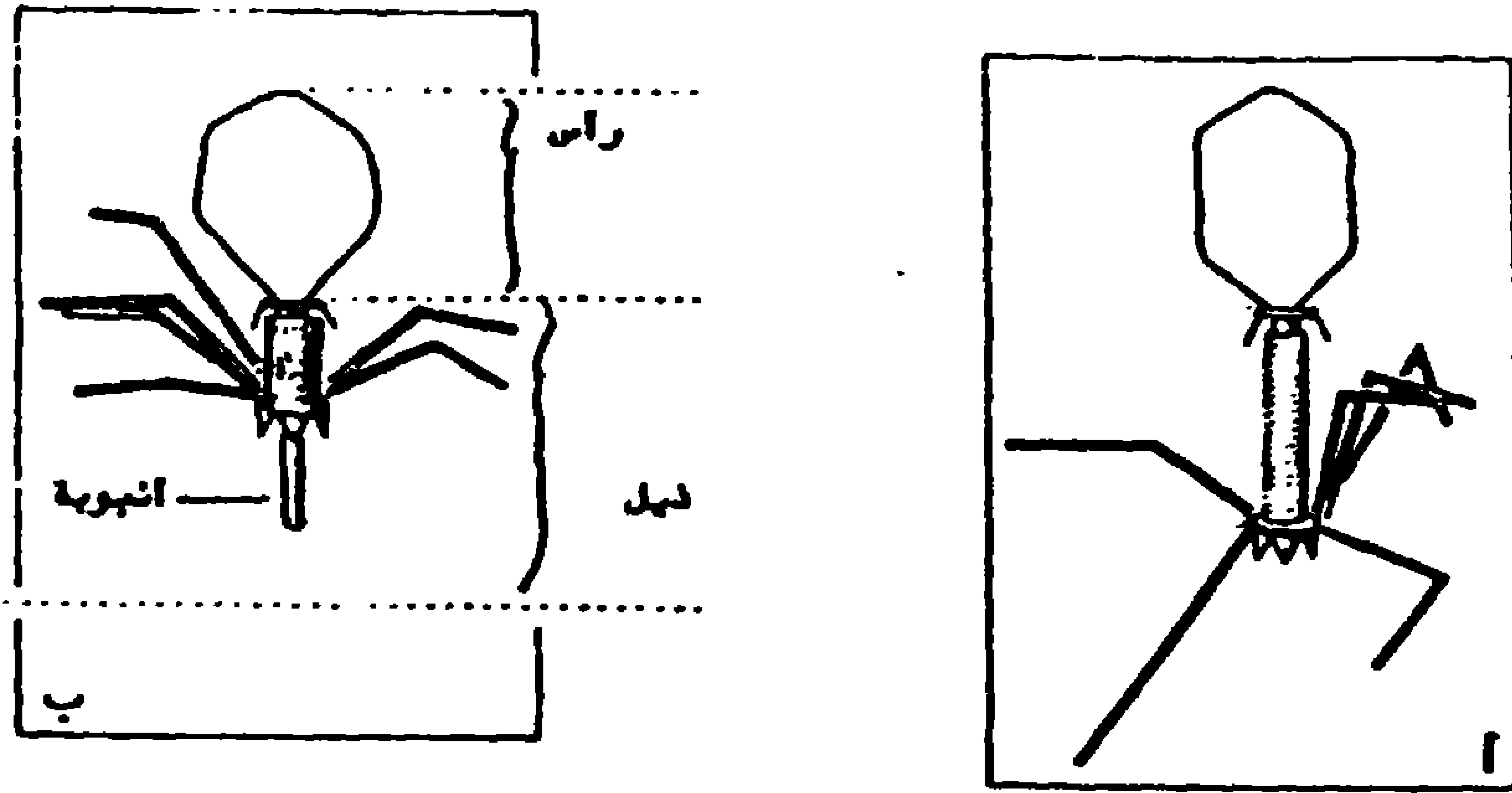
يمكن استعمال طريقة البلاك السابقة الذكر لعزل الفاج الخاص ببكتيريا معينة من الطبيعة ، وذلك باستعمال هذه البكتيريا كعائل يتكاثر عليه الفاج المطلوب . ومثل ذلك الفاج يوجد فى الطبيعة فى الأماكن التى توجد فيها البكتيريا العائل ، فأنواع الفاج التى تهاجم بكتيريا القولون توجد بكثرة فى مياه المجارى حيث توجد بكتيريا القولون نفسها . لذلك ، فعند الرغبة فى عزل فاج خاص بمهاجمة نوع معين من البكتيريا ، فان عينة من المصادر الطبيعية لهذه البكتيريا يتم رجها مع الماء ثم يرشح السائل الرائق بعد الرج خلال مرشح بكتيرى غشائى (وهى أغشية لا تسمح بمرور خلايا البكتيريا ، ولكنها تسمح بمرور الفيروسات) ويمكن الاستعاضة عن خطوة الترشيح السابقة الذكر باضافة قطرات قليلة من الكلوروفورم الى السائل الرائق الناتج بعد الرج ، وذلك لقتل الخلايا البكتيرية الموجودة مع الفاج .

والسائل المتحصل عليه بعد الترشيح أو بعد الخلط مع الكلوروفوم يخلط بكميات مختلفة مع معلق بكتيرى من البكتيريا الحساسة ، ويحضن على أطباق أو مستنبت مغذى صلب مناسب. وأى بلاكات تظهر على سطح المستنبت بعد التحضين تمثل جسيمات الفاج التى توجد فى المصادر الطبيعية المستخدمة فى بداية التجربة ، ويمكن عزل الفاج من بلاك وحيد منفرد ، وذلك بالقطع خلال الآجار بواسطة ابرة تلقيح معقمة وتعليق قطعة الآجار المقطوعة فى حجم صغير من سائل التخفيف . ومثل هذا المعلق يحتوى عادة على عدد يتراوح بين 10^4 الى 10^6 جسيمات فاج فى المللیلتر الواحد .

أما التنقية فيمكن عادة تحقيقها بعمل سلسلة تخفيفات من المعلق المتحصل عليه من بلاك واحد واعادة زرعها على البكتيريا موضع الدراسة .

ولاعداد كميات كبيرة من الفاج — للتحليل الطبيعى والكيميائى — يجرى تلقيح الفاج فى مزرعة بكتيريا سائلة نامية نموا لوغاريتميا ... وفى مثل هذه الحالة فان الفاج يهاجم الخلايا فى المزرعة السائلة فى سلسلة من المهاجمة وتحليل الخلايا ، وفى خلال ساعات قليلة وتتحول المزرعة من الحالة العكرة الى الحالة الرائقة ، وتتحلل معظم أو كل خلايا المزرعة . ويمكن تخليص هذا السائل من الخلايا المتبقية — ان وجدت — بواسطة الطرد المركزى على سرعة منخفضة ، فتترسب الخلايا بينما يبقى الفاج معلقا أو بمعاملة السائل بنقط قليلة من الكلوروفورم ويكون الناتج بذلك خاليا من الخلايا ويسمى Sterile lysate وعادة ما يحتوى مثل هذا المعلق الفيروسى على 10^9 الى 10^{12} جسيمات فاج فى المللیلتر الواحد ، وذلك علاوة على بقايا وأشلاء الخلايا التى انفجرت.

والخطوة الأخيرة فى تنقية الفاج يمكن تحقيقها عادة بقوة الطرد المركزى على سرعات فائقة تصل الى أكثر من ١٠٠٠٠٠ مرة قدر قوة الجاذبية الأرضية ، وقد يسبق الخطوة الأخيرة هذه خطوة ترسيب لجسيمات الفاج من المعلق بواسطة المعاملة بملح كبريتات الأمونيوم .



شكل ١٦ـ٢ : رسم تخطيطى لبكتيريوفاج تى ٢

أـ قبل حقن الحمض النووى ·

ب ـ عند حقن الحمض النووى فى الخلية البكتيرية ·

تركيب فاجات تى ذات الأرقام المزدوجة وعلاقته بتركيب الفاجات الأخرى

تتركب هذه الفيروسات من رأس وذيل (شكل ١٦ـ٢) ، ويحتوى الرأس على الحمض النووى دى أوكسريبو نيوكليك مزدوج السلسلة dsDNA وكمية صغيرة من مركبات عديدة الأمين Polyamines وعدد من البروتينات وسلاسل الببتيدات الصغيرة · ويشبه الرأس نصفى شكل متعدد الأوجه (ايكوساهيدرال) متصلين ببعضهما بستة أوجه قصيرة منشورية الشكل ··· ويختلف هذا الشكل عن بعض الفاجات الأخرى مثل فاج السالمونيللا Salmonella phage والمسى بى ١ (P1) ، بى ٢ (P2) وغيرها من فاجات بكتيريا القولون Coliphages المعروفة باسم فاج لامدا λ phage .

ذات الشكل المتعدد الأوجه الدقيق :

تختلف الذيول فى الفاجات اختلافا كبيرا فى قطر وتركيب الذيل ، فالذيل فى فاجات تى ذات الأرقام المزدوجة يتكون من أنبوبة مركزية حلزونية (والتى يمر من خلالها الحمض النووى دى أوكسريبونيوكليك عند غزو الفيروس لخلية بكتيرية) محاطة بطبقة حلزونية Helical sheath

قابلة للتقلص (مثل السوستة) ، وهذه الطبقة الحلزونية متصلة من أسفلها بصحيفة قاعدية Base plate ذات شكل سداسى ولها تركيب معقد ، كما أن لها طرفا مدببا عند كل زاوية ، وتتصل هذه الصحيفة القاعدية بستة ألياف ذيلية tail fiber رفيعة وطويلة ، وهذه الليفات الذيلية هى أعضاء الاتصال بجدار الخلية العائل .

أما فاجات تى ١ (T1) وتى ٥ (T5) فلا تحاط فيها الأنبوبة المركزية الحلزونية بالطبقة الخارجية Sheath . أما فاجات تى ٣ (T3) وتى ٧ (T7) وكذلك فاج تى ٢٢ (T22) الذى يصيب السالمونيللا Salmonella ، فهى ذات ذيل قصير ينتهى بتركيب يشبه الصفيحة القاعدية متصل به ستة ليفات ذيلية قصيرة . أما فاج فاى ــ اكس ١٧٤ (Ø X- 174) وهو من الفاجات التى تصيب بكتيريا القولون أيضا ، فليس به ذيل .

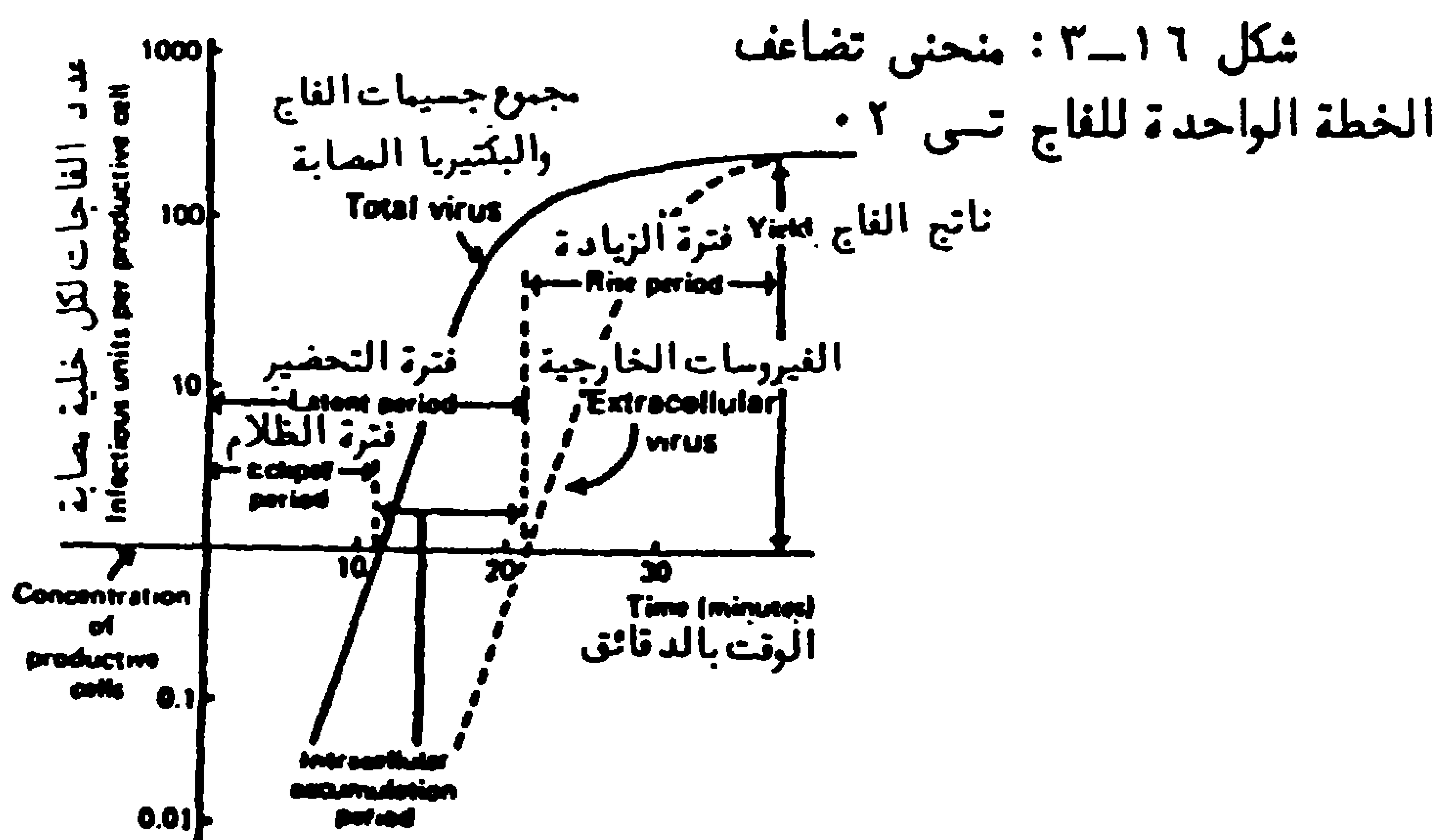
ويمكن الحصول على الغطاء البروتينى للفاج المفرغ من الحمض النووى DNA less capsid والمسى شبح (أو أشباح الفاج Phage Ghosts) بواسطة التخفيف السريع (لأحد فاجات تى ذات الأرقام المزدوجة) من محلول مركز فى ماء ، فينتج عن ذلك صدمة أسموزية Osmotic bursting أو انفجار أسموزى للرأس ، فينفصل الحمض النووى عن المحفظة (الشبح) .

منحنى تضاعف الخطوة (المرحلة) الواحدة فى الفاجات

One step multiplication curve

ان منحنى تضاعف الخطوة الواحدة يصف انتاج نسل الفاج بمرور الوقت بعد اصابة الخلية البكتيرية تحت ظروف تجربة تضاعف الخطوة الواحدة . فتخلط مزرعة من البكتيريا الحساسة للفاج مع جسيمات الفيريون ، وتحضن لفترة زمنية قصيرة لتسمح للفاج بالامتزاز على سطح البكتيريا . فاذا كان عدد البكتيريا كبيرا جدا بالنسبة لعدد الفيريونات ، فان كل جسيم فيريون تقريبا يمتز على سطح خلية من الخلايا ، ثم تخفف المزرعة بعد ذلك تخفيفا كبيرا ويسمح لها بالنمو ، ثم يقدر عيار جسيمات

الفاج الخارجية extracellular titer ومجموع جسيمات الفاج الخارجية والخلايا المصابة total titer دوريا - على فترات متقاربة باجراء عد البلاكات plaques التى تظهر على بكتيريا حساسة نشطة نامية على أطباق مستنبت غذائى صلب ، وتقدر أعداد جسيمات الفاج الخارجية extracellular titer بأخذ عينات من المخلوط المخفف - على فترات - دوريا ، وتعريضها لطرد مركزى بسرعات منخفضة فترسب الخلايا ، أما جسيمات الفاج فتظل معلقة ، ويمكن عدها بالحقن على الأطباق المحتوية على البكتيريا الحساسة . كما يمكن الاستعاضة عن خطوة الطرد المركزى باضافة قطرات من الكلوروفورم للعينة . فتقتل البكتيريا ، وتصبح جسيمات الفاج الخضريةVegetative phage الموجودة داخلها غير قادرة على تكوين بلاكات ، أما مجموع جسيمات الفاج الخارجية والبكتيريا المصابة plaques فيجرى تقديره بسحب عينات على فترات دورية ولا تطرد مركزيا ، ولكن يجرى حقنها مباشرة على أطباق آجار تحتوى على البكتيريا الحساسة فيتكون بلاك plaque لكل خلية بكتيرية مصابة أو جسيم فاج خارجى (شكل ١٦-٣) يوضح شكل المنحنى المتحصل عليه فى مثل هذه التجربة .



شكل ١٦-٣ : منحنى تضاعف الخطة الواحدة للفاج تى ٢ .

وكما هو واضح من الشكل ، تتكون دورة تضاعف الفاج من عدة فترات ... وهى :

١ - فترة الظلام : Eclipse period:

وفيها يكون عدد الفاج الكلى صغيرا جدا أو منعدم (وهى ما تبقى من الفاج فى بداية التجربة دون امتزاز فقط) • ونهاية فترة الظلام تمثل الوقت اللازم لكى تصبح كل خلية مصابة ممثلة لوحدة منتجة Productive unit للفاج فى المتوسط ، ويأتى بعد هذه الفترة فترة تراكم الفيروسات الداخلية...

والواقع أنه بعد حقن الحمض النووى الفيروسى داخل البكتيريا ، فان الخلايا الكاملة تنتج بلاكات (بقع) Plaques (انظر كشف واظهار الفاج) ولكن الخلايا التى يتم تكسيرها (بالكلوروفورم) بعد الاصابة لا يمكنها انتاج بلاكات • والبلاكات التى تظهر من الخلايا الكاملة تظهر فقط بعد انقضاء فترة تكوين الفيريونات فى الخلايا المصابة •

فالفيريونات الكاملة يمكنها غزو خلايا جديدة • أما الحمض النووى الفيروسى (الناتج عن تكسير الخلايا بالكلوروفورم) بدون غطاء ، فانه لا يمكنه غزو خلايا جديدة لانتاج فيريونات كاملة ، فلا تتكون بلاكات ، وبذلك فانه قبل تكوين فيريونات كاملة فى الخلايا المصابة لا تتكون بلاكات مسببة حدوث فترة الظلام المذكورة ، وبعبارة أخرى يمكن تبرير حدوث فترة الظلام بعدم قدرة الحمض النووى الفيروسى (بدون المحفظة) على غزو خلايا بكتيريا تحت الظروف العادية •

٢ - فترة تراكم الفيروسات الداخلية :

Intracellular accumulation

وفيها يتراكم نسل الفاج داخل الخلية ، ولكنه لا ينطلق فى البيئة خارج الخلية ، ونهاية هذه الفترة تمثل تكوين جسيم فيريون خارجى (فى المتوسط) لكل خلية مصابة ، ومجموع فترة الظلام وفترة تراكم الفيروسات الداخلية معا يمثل ما يعرف باسم فترة التحضير latent period ونهاية فترة تراكم الفيروسات الداخلية تمثل نهاية فترة التحضير •

٣- فترة الزيادة : Rise period :

وفيها يزيد عدد الفيريونات الخارجية Extracellular phage titer حتى يثبت العدد ، وهذه تمثل نهاية فترة التضاعف أو نهاية دورة التضاعف . ويسمى متوسط عدد الفيريونات الناتجة عن كل خلية أصيبت باسم (الناتج الفيروسى Viral yield) .

وفى أثناء فترة الزيادة تنفجر الخلايا (Cell lysis or burst) المصابة لافراز الفيريونات الكاملة فى البيئة . ويتسبب انفجار الخلايا فى انخفاض درجة تعكير البيئة .

١- دورة تضاعف الفاج الحلقى مزدوج السلسلة المحتوى على حمض دنأ حلقى مزدوج السلسلة

ان دورة تضاعف فاجات تى مزدوجة الأرقام هى أكثر هذه المجموعة من الفيروسات دراسة ، وتتم دورة التضاعف المذكورة فى خمس مراحل مميزة ... وهى :

أولا : اصابة الخلية العائل Infection of host cell : بالفاج :

وهى تشمل عمليتين متتاليتين .. هما امتزاز الفيريون على سطح الخلية العائل ثم انفصال الحمض النووى عن المحفظة وحقنه فى الخلية العائل ...

وفيما يلى شرح لهاتين العمليتين :

أ- امتزاز Adsorption الفيريون على سطح الخلية العائل :

وهى أول خطوة فى الاصابة ، وهى خطوة على درجة عالية من التخصص ، اذ يتم الاتصال أو التفاعل بين أعضاء الامتزاز adsorption

الخاصة بالفاج مثل الذيل مع أعضاء أو أماكن الاستقبال receptor sites على سطح الخلية العائل ، ويؤدى هذا التفاعل الى امتزاز adsorption لجسيمات الفاج على سطح الخلية . وهذا التفاعل يكون فى بدايته عكسيا . اذ يمكن ازالة الفاج من سطح الخلايا فى بداية الاتصال ، ولكن فى النهاية يكون التفاعل غير عكسى ، ولا يمكن غسل الفاج من سطح الخلية فى الظروف المناسبة من درجة الحرارة والقوة الأيونية Ionic strength.

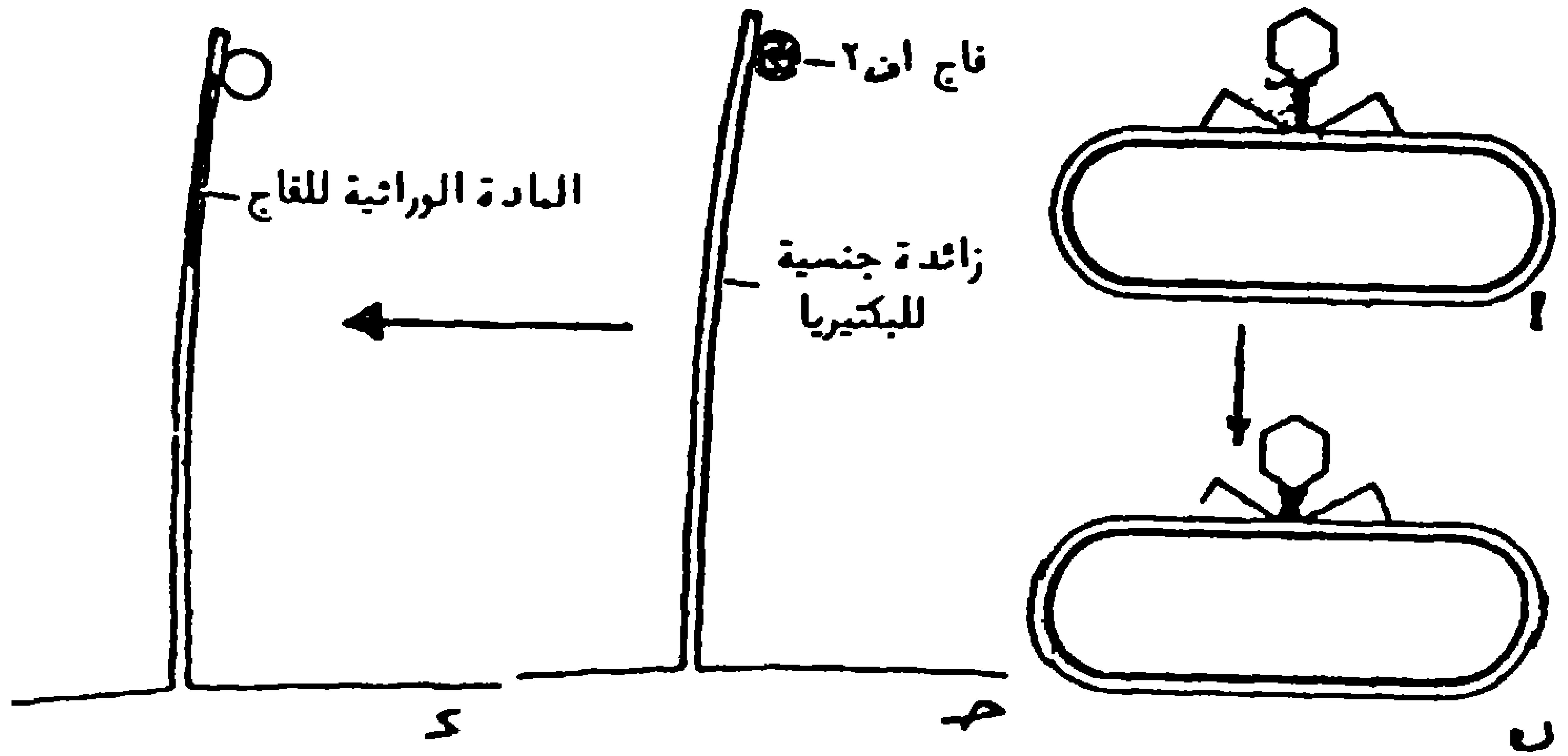
كما أنه يمكن انتخاب سلالات بكتيرية ذات طفرات فى أماكن الامتزاز ، ومثل هذه الطفرات تكون مقاومة للغزو بالفاج الذى تم تطفير أماكن امتزازه على سطح الخلية مثل سلالات البكتيريا B2 فهى تقاوم الغزو بواسطة فاج تى ٢ (T2) . كما انه تم استنباط طفرات من فاج تى ٢ (T2) تستطيع الامتزاز الى سلالة البكتيريا (B2) وهذه الطفرة يمكنها اكمال دورة تضاعف عادية فى هذه السلالة من البكتيريا (B2) ويرمز لطفرة الفاج تلك تى ٢ اتش (T2h) .

موقع امتزاز الفيريون على الخلية :

لكل الفيريونات موقع امتزاز متخصص لكل منها ، فكل من فاجات تى ذات الأرقام المزدوجة (Teven) لها موقع متخصص و تركيب معقد على سطح الخلية ، وهذا الموقع يميز الليفات الذيلية tail fibers للفاج المخصص له دون غيرها من الليفات الذيلية للفاجات الأخرى . وقد أوضحت دراسات المجهر الالكترونى ارتباط الليفات الذيلية النقية بمواقع محددة على سطح الخلية ارتباط غير رجعى Irreversibly . كما أنه امكن فصل هذه المواقع من سطح الخلية ووجد أنها ترتبط بالفاجات المخصصة لها بارتباط غير رجعى Irreversibly. وهذه المواقع المحددة من سطح الخلية تسمى مواقع الاستقبال Receptor أو Receptor sites ... وهى عادة من مركبات عديدة السكريات معقدة التركيب أو مركبات بروتينية ولها صفات انتجينية خاصة. وعلى سبيل المثال ، فقد وجد أن موقع الاستقبال لفاج لامدا (λ)

هو البروتين الناقل لسكر المانوز Mannose transport protein.

بينما يمتز فاج اف ٢ (f2) وهو فاج يحتوى على رنأ (RNA) يمتز على الزوائد الجنسية Sex pili لبكتيريا القولون E.coli بينما يمتز فاج fd (وهو فاج يحتوي على DNA) عند الطرف البعيد فقط للزوائد الجنسية المذكورة (شكل ١٦ـ٤) ٠



شكل (١٦ـ٤) : يوضح امتزاز فاج تى ٢ (أ ،ب) أف ٢ (ج ،د) على خلايا البكتيريا العائل أ ٠

تأثير امتزاز الفاج على الأيض الخلوى :

Effect of phage adsorption on cellular metabolism

ان مجرد اتصال ذيل أحد فاجات تى ذات الأرقام المزدوجة Teven دون حقن للحمض النووى يؤدى الى اختلال الغشاء الخلوى disorganization ويؤدى الى زيادة نفاديته بحيث يسمح بتسرب بعض الجزيئات الصغيرة (مثل النيوكليوتيدات nucleotides) الى الوسط الخارجي ٠ ويحدث مثل هذا الاختلال أيضا عند امتزاز أشباح

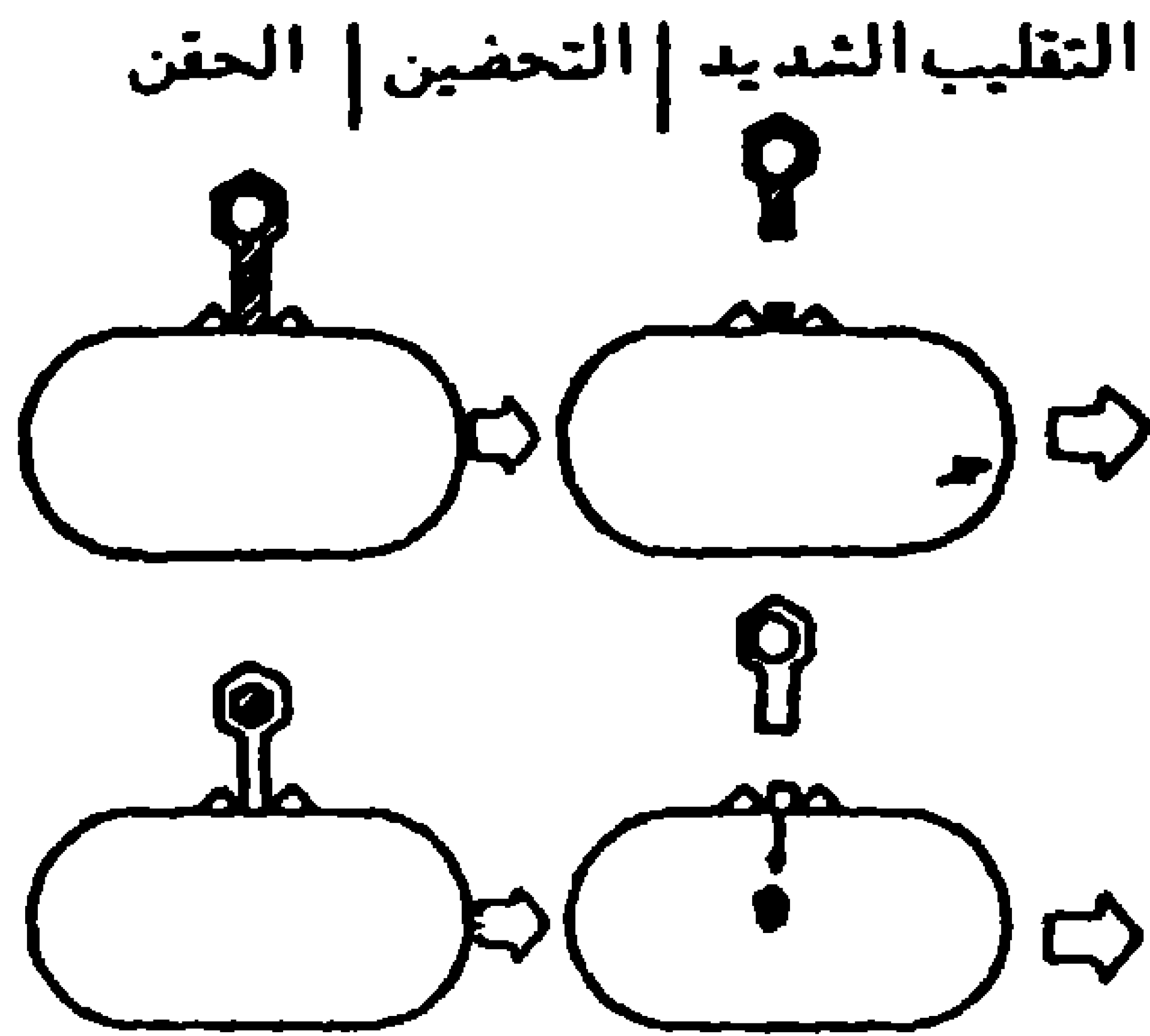
ghosts الفاج (وهى الغطاء البروتينى للفاج الخالي من الحمـض النووى) على سطح الخلية ، وهذا الاختلال يحدث تأثيرا بالغا علـى أيض الخلية بما فى ذلك التوقف السريع لبناء بروتينات الخلية ينتهـى بتحلل أو انفجار الخلايا ... لذلك نجد أن الخلايا التى يمتز علـى سطحها أشباح الفاج تنفجر دون أن يحقن فيها حمض نووى فيروسى ، ويسمى هذا الانفجار " انفجار بدون تكوين فاجات جديدة (Lysis from without).

أما الخلايا التى يمتز على سطحها فيريونات كاملة ، فان هـذا التغير فى الغشاء الخلوى يكون تغيرا مؤقتا فقط. اذ ينعكس هذا التغير بسرعة بعد حقن الحمض النووى الفيروسى فى الخلية . فعند حقـن الحمض الفيروسى فى الخلية تتكون بعض البروتينات الفيروسية التـى تدمج مع الغشاء الخلوي فيستعيد سيطرته على نفاذية الجزيئـات الصغيرة. بل وأكثر من ذلك ، فان هذه البروتينات التى تدمج فـى الغشاء الخلوي تكسب الخلية مناعة immune ضد عودة الاصابـة superinfection بفاجات أخرى من نفس النوع ، كما تصبح الخلية مقاومـة أيضا (للانفجار بدون lysis from without) من جراء الغزو بأشباح الفاج .

ب - انفصال الحمض النووى عن المحفظة وحقنه فى الخلية العائل :

والخطوة الثانية من الاصابة وتشمل انفصال الحمض النـووى الفيروسى عن المحفظة وحقنه فى الخلية العائل ، وقد تم اثباتها بواسطة واحدة من أهم التجارب فى علم البيولوجى (الحياة) الحديث بواسطـة العالمان هيرش وشاس Hershey & Chase فى عام ١٩٥٢م ، حيـث أثبتا هذان العالمان بتجربتهما المشهورة انفصال الحمض النووى عـن المحفظة بعد الامتزاز وحقنه داخل الخلية العائل ، فقد قام هـذان العالمان بانتاج نوعان من فاج تى ٢ T2 النوع الأول يحتوى غطـاءه البروتينى على كبريت مشع (^{35}S) والنوع الثانى من فاج تى ٢ T2 يحتوى حمضه النووى DNA على فوسفور مشع (^{32}P) .

تم خلط الفاج الأول المحتوى على الكبريت المشع ^{35}S مع البكتيريا الحساسة حتى تحدث الاصابة ثم عرضت المزرعة لتقليب شديد فى خلاط عالى السرعة لفصل الفيريونات عن البكتيريا المصابة ، وتم فصل الخلايا من المعلق بالطرد المركزى ، فوجد أن معظم الكبريت المشع ^{35}S ٨٠٪ فصل فى السائل ، ولم يتبقى مع الخلايا الا نسبة بسيطة ، مما يدل على أن الغطاء البروتينى بقى خارج الخلية (شكل ١٦ــ٥) .



شكل (١٦ــ٥) تجربة هيرشى وشاس لايضاح انفصال دنأ الفيروس عن البروتين عند الحقن فيبقى البروتين خارج الخلية بينما يحقن الحمض النووى داخل الخلية .

أما الفاج الثانى المحتوى على الفوسفور المشع ^{32}P فى حمضه النووى ، فقد خلط مع البكتيريا الحساسة أيضا وسمح له بالاصابة ثم عرضت المزرعة لتقليب شديد فى خلاط عالى السرعة لفصل الفيريونات عن البكتيريا المصابة ، وتم فصل البكتيريا من المعلق بالطرد المركزى ، فوجد أن معظم الفوسفور المشع ^{32}P يبقى مع الخلايا المترسبة ، أما السائل المنفصل فلا يحتوى على نسبة تذكر من الفوسفور المشع ... مما يدل على أن الحمض النووى الفيروسى قد بقى مع الخلايا المصابة ، وحيث أن هذا الحمض النووى الفيروسى لم يتحلل عند اضافة أنزيم الدى أوكسى ريبونيكليز DNase فقد أخذ ذلك دليلا على أن الحمض النووى الفيروسى يكون داخل الخلايا وليس خارجها . ذلك أن الحمض النووى ان وجد خارج الخلايا لتحلل بالانزيم المذكور .

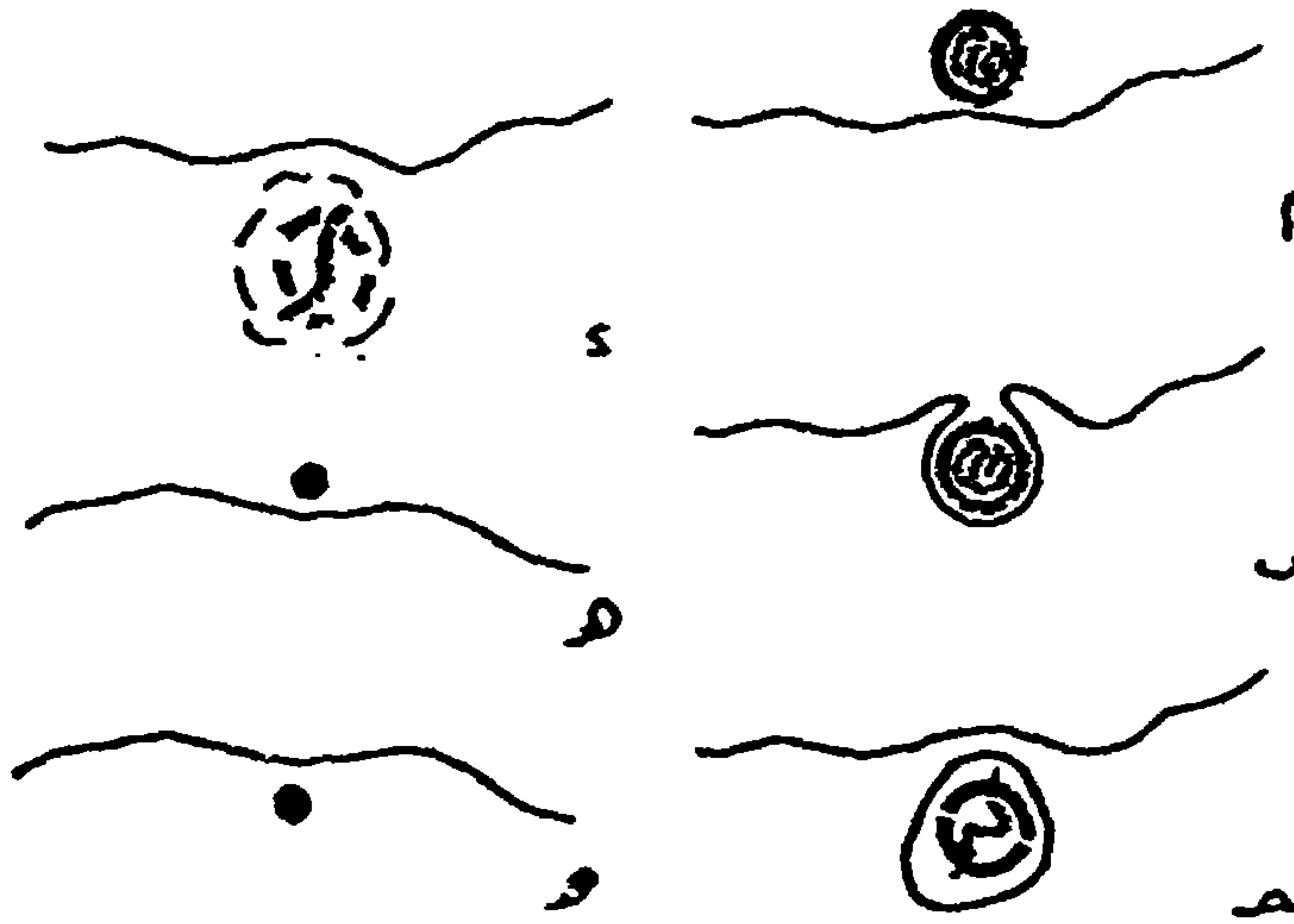
كما أن الخلايا التى تعرضت للتقليب الشديد فى كلا التجربتين أفرزت بعد ذلك جسيمات فيريونات كاملة ، كما لو لم تكن قد عرضت لعملية التقليب الشديد ...

وهذه النتائج أوضحت بدليل لا يقبل الشك أن الحمض النووى للفاج هو الذى يحمل الصفات الوراثية الفيروسية الى داخل الخلية .

ثم أجريت تجربة أخرى تم فيها خلط الفاج مع أجزاء الجدار الخلوى بدلا من خلطه مع خلايا حية ، فوجد أن الحمض النووى DNA الفيروسى قد أفرز فى البيئة حيث أمكن تحليله بواسطة أنزيم الدى أوكس ريبو نيوكليز DNase . وأوضحت هذه النتائج أن دخول الحمض النووى الفيروسى الى داخل الخلية العائل لا يتطلب طاقة من الخلية .

علاقة خطوة الحقن فى فاجات تى ذات الأرقام الزوجية بالحقن فى الفاجات الأخرى

ان ميكانيكية حقن الحمض النووى الفيروسى لفاجات تى ذات الأرقام الزوجية T even التى تتم بما يشبه الحقنة Syring like المعروفة لتعاطى الأدوية ... هى ميكانيكية فريدة فى نوعها ، ومن غير المعروف حاليا كيف يستطيع العديد من الفاجات اختراق الغشاء الخلوى . وبعد اكتشاف هذه الميكانيكية تولد الاعتقاد بأن كل الفيروسات تحقن حمضها النووى داخل الخلية بينما تبقى بروتينات المحفظة دائما خارج الجدار الخلوى . ولكن ذلك ليس صحيحا دائما ، فبعض الفيروسات تخترق الخلايا بميكانيكية مختلفة تماما عن ذلك (شكل ١٦-٦). فمثلا نجد أن الفاجات الحلزونية helical (الخيطية filamentous) التى تحتوى حمض نووى DNA مفرد السلسلة تخترق الجدار الخلوى بكاملها (بما فى ذلك البروتين الأساسى Major protein للمحفظة) ثم يترك البروتين الأساسى للمحفظة على أو فى الغشاء الخلوى ، بينما يدخل الحمض النووى دنأ DNA محملا ببروتين ثانوى minor protein يسمى بروتين أ A protein الى داخل السيتوبلازم الخلوى.



شكل ١٦-٦ : ابتلاع جسيم الفيروس باكمله والخطوات التالية التى تتم داخل الخلية وما زالت ميكانيكية هذا النوع من الاصابة غير واضحة ٠

ثانيا : تخليق البروتينات الفيروسية المبكرة :

: Viral Early protein synthesis

بمجرد وصول الحمض النووى الفيروسى الى داخل سيتوبلازم الخلية العائل ، يتم فورا تكوين بعض البروتينات من الجينات الفيروسية بواسطة الأنزيم الخلوى RNA Polymerase والريبوسومات الخلوية ٠ وتسمى هذه البروتينات باسم البروتينات المبكرة Early proteins وهى عبارة عن الأنزيمات اللازمة لتضاعف الحمض النووى الفيروسى وتحليل الحمض النووى الخلوى ٠ ففى حالة فاجات تى ذات الأرقام المزدوجة T even على سبيل المثال تشمل البروتينات المبكرة الأنزيمات المسئولة عن تكوين 5-hydrox methyl cyo-sine والمركبات ثلاثية الفوسفات له ، وكذلك انزيمات DNA polymerase, DNase.

وقد سهل وجود القواعد النيتروجينية 5-hydroxy methyl cytosine فى الحمض النووى الفيروسى لفاجات تى ذات الأرقام المزدوجة اكتشاف مراحل تضاعف الفيروسات بعد وصول الحمض النووى الفيروسى الى داخل سيتوبلازم الخلية ، فقد استغل العالم هيرشى Hershey هذه الخاصية التى تنفرد بها فيروسات تى ذات الأرقام المزدوجة لاثبات أن :

(١) بناء الحمض النووى الخلوى د ن أ DNA يتوقف تماما

ويستبدل ببناء الحمض النووى د ن أ DNA الفيروسى .

(٢) الحمض النووى د ن أ DNA الخلوى يبدأ في التحلل degradation ويستخدم ناتج تحلل الحمض النووى كأحجار بناء للحمض النووى د ن أ DNA الفيروسى .

وقد أصبح واضحا الآن أن بناء الأحماض النووية د ن أ DNA ، رن أ RNA الخلوية وكذلك البروتينات الخلوية يتوقف في خلال دقائق قليلة بعد وصول الحمض النووى د ن أ الفيروسى الى سيتوبلازم الخلية العائل ... وهذا التوقف لا يرتبط بالتغير المؤقت الذى يحدث في الغشاء الخلوى عند امتزاز الفيريونات على سطح الخلايا ، ولكن توقف بناء البروتينات والأحماض النووية الخلوية يرجع بالدرجة الأولى الى بناء البروتينات الفيروسية المبكرة ، ولذلك ففى فاج تى ٤ (T4) تقسم البروتينات الفيروسية المبكرة الى قسمين هما :

<u>أ ـ البروتينات المبكرة الفورية :</u> Immediate early proteins

وهى تتكون فور وصول الحمض النووى الفيروسى الى الخلية ، وتسبب ايقاف بناء المكونات الخلوية .

<u>ب ـ البروتينات المبكرة المؤجلة :</u> Delayed early proteins

وهى تتكون أيضا فور وصول الحمض النووى الفيروسى الى الخلية وتلزم لمضاعفة الحمض النووى الفيروسى ... لذلك يستمر بناءها لفترة زمنية طويلة نسبيا .

والبروتينات المبكرة تنتسخ من السلسلة اليسرى left strand للحمض النووى الفيروسى د ن أ DNA. وهذا مقارنة بما يعرف باسم البروتينات المتأخرة . (وهى البروتينات التى يتم انتاجها في مرحلة متأخرة عن الاصابة بفاج تى ٤ T4 وهى تنتسخ من السلسلة اليمنى

Right strand · والبروتينات المتأخرة تشتمل على انزيمات تحليل الخلايا العائل وبروتينات المحفظة (الغطاء البروتينى للفاج) ·

قد يبدو أنه من المحتمل أن كل الفيروسات تحمل المعلومات الوراثية - على الأقل - لبعض الانزيمات الضرورية لمضاعفة الحمض النووى الفيروسى ، ولكن العديد من الفيروسات - على خلاف ما هو معروف فى فاج تى ٤ T4 - تعتمد على المعلومات الوراثية للحمض النووى للخلية العائل لامدادات الأنزيمات المختلفة اللازمة لتضاعف الفيروس ، وفى تلك الحالات لا يتحلل الحمض النووى DNA للخلية العائل ، ولكنه يستمر فى العمل كمادة وراثية لانتاج البروتينات المختلفة اللازمة لبناء الفيروس ، وذلك علاوة على البروتينات التى تنتج من ترجمة المعلومات الموجودة على الحمض النووى الفيروسى ·

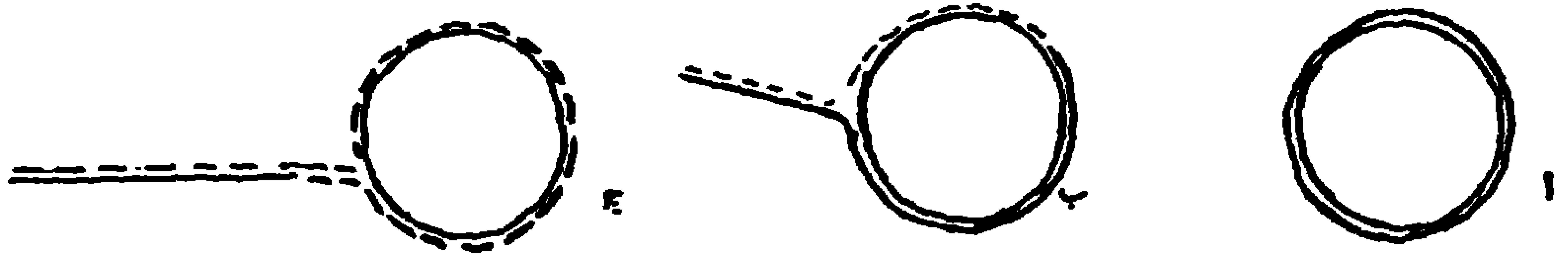
ثالثا : تضاعف الحمض النووى الفيروسى :

Replication of Phage Nucleic Acid

يتضاعف الحمض النووى د ن أ DNA الفيروسى وفقا للميكانيكية العامة لتضاعف الـ د ن أ DNA التى تتم فى سائر الكائنات ، ومجملها أن كلا السلسلتين تنفصلان عن بعضهما ، وتعمل كلا السلسلتين كأساس لتكوين سلسلة أخرى جديدة مكملة لها ، وينتج عن ذلك جزيئان د ن أ DNA متماثلين تماما مع جزيء د ن أ DNA الأساس ·

وهناك اختلافات بسيطة فى تفاصيل تضاعف جزيء الحمض النووى د ن أ DNA الفيروسى وفقا لما اذا كان الحمض النووى DNA من النوع الحلقى أو المستقيم · فالفاجات التى تحتوى على جزئيات د ن أ DNA حلقية مزدوجة السلسلة يتم تضاعف الحمض النووى لها بأحد نظامين · النظام الأول والشائع فى سائر الكائنات كما سبق الاشارة اليه ، ويعرف باسم النظام المتماثل ، وفيه تعمل كلا من السلسلتين المنفصلتين الحلقيتين كأساس لتكوين سلسلتين آخرتين مكملتين لهما · لذلك ، فكلا السلسلتين المتماثلتين فى تكوين جزيئات حمض نووى د ن أ DNA جديدة مزدوجة السلسلة ، أما النظام الثانى وهو يسمى النظام غير المتماثل

فهو يتم وفقا لنموذج الدائرة المتدحرجة Rolling circle model وفى هذا النظام الأخير تفتح احدى السلسلتين فقط وتتحول الى سلسلة مستقيمة بينما تظل السلسلة الأخرى فى صورة حلقة · وتتكون السلسلة المكملة على كلا السلسلتين (شكل ١٦ـ٧)



شكل ١٦ـ٧ : التضاعف وفقا لنموذج الدائرة المتدحرجة ·
حيث تفتح احدى السلسلتين (أ) ثم تتكون السلسلة المكملة لكل منهما (ب) ثم يتم تقطيع سلاسل مستقيمة مزدوجة من الحمض د ن أ (ج) .

والنظام الأخير يستخدم لانتاج د ن أ DNA مستقيم Linear من جزئيات د ن أ DNA حلقية ·

أما الفاجات التى تحتوى على جزيئات د ن أ مفردة (احادية السلسلة فيلاحظ أنه بمجرد دخول جزيئات الحمض النووى د ن أ المفردة السلسلة الى الخلية فانه تتكون جزيئات د ن أ DNA مزدوج السلسلة كمرحلة وسطية للتضاعف ، وعادة ما يتكون جزيء د ن أ المزدوج السلسلة بواسطة انزيم DNA polymerase من أصل بكتيرى ، وليس من أصل فيروسى · يلى ذلك تضاعف د ن أ المزدوج السلسلة كما سبق الاشارة اليه بأحد النظامين السابقين ، ثم يتوقف التضاعف ، ثم يقوم أحد الانزيمات المتخصصة بتحليل احدى السلسلتين بحيث تتبقى جزيئات د ن أ وحيدة السلسلة من نفس النوع · وهذه الجزيئات هى التى تدخل فى تركيب الفيريونات الجديدة فيما بعد ·

أثناء تضاعف جزيئات الحمض النووى د ن أ DNA فانه تحدث أحيانا تغيرات عشوائية Random فى أزواج القواعد · وهذه التغيرات العشوائية تسمى طفرات mutations · كما قد يحدث كسر واعادة اتصال Break and reunion لجزيئات د ن أ DNA خاصة اذا تم غزو

الخلية المصابة باثنين من الفاجات ـ من ذوى العلاقة وان اختلفت المعلومات الوراثية لكل منهما ـ فى نفس الوقت . وينتج عن الكسر واعادة الاتصال لجزيئات د ن أ DNA تكوين خلطة ووراثية Genetic recombinant فى الفيريونات البنوية Progany .

ومن المهم الاشارة الى أن بعض الفاجات تحتوى على قواعد نيتروجينية خاصة فى حمضها النووى د ن أ وذلك مثل فيروسات تى ذات الأرقام الزوجية T even حيث يستبدل السيتوزين بقواعد ٥ ـ هيدروكس ميثيل سيتوزين (HMC) 5-hydroxymethyl cytosine كما يستبدل الثيمين فى د ن أ DNA لبعض الفاجات التى تغزو البكتيريا باسيلس ساتيلس Bacillus subtilis بالقواعد النيتروجينية ٥ ـ هيدروكس ميثيل يوارسيل .

رابعا : تجميع جسيمات فيروسية جديدة : Maturation

بمجرد بدء تضاعف الحمض النووى د ن أ DNA الفيروسى ، فان الجينات المسئولة عن البروتينات المتأخرة Late proteins (وهى الجينات التى لم تستخدم لانتاج بروتينات بعد) تبدأ فى انتاج الحمض النووى الريبونيوكليك ـ مرسال (م ـ رن أ m-RNA) ليتم ترجمة المعلومات منه فى صورة بروتينات . وهذه البروتينات تشمل ضمنها بروتينات المحفظة Capsid proteins الفيروسية . لذلك فان تراكم جزيئات د ن أ DNA الفيروسى تكون مصحوبة بتراكم وحدات بروتين الغطاء الفيروسى . ولذلك فان كل جزىء د ن أ DNA فيروسى يتم تعبئته باحكام شديد داخل غطاء مكون من وحدات بروتينية تأخذ الشكل متعدد الأوجه للفيريونات الكاملة .

أما فى فيروسات تى ذات الأرقام المزدوجة فان تكوين فيريونات جديدة يكتمل ببلمرة وحدات بروتينية خاصة لتكوين الذيل بعد تكوين الرأس المتعدد الأوجه ٠

وعمليات التركيب الذاتية للحمض النووى د ن أ DNA مع وحدات البروتين المذكورة آنفا يتم تسييرها على هذا النمط بواسطة بروتينات تنتجها جينات فيروسية خاصة ٠ وهذه البروتينات الأخيرة تتحكم فى وضع وحدات بروتينية خاصة عند الأركان لتكوين الكابسومرات (البنتامرات أو الهكسامرات) ٠

ويؤدى احداث الطفرات فى جينات تلك البروتينات الى انتاج فيريونات غريبة مثل الفيريونات عديدة الرؤوس Polyheads أو عديدة الغلاف الذيلى Polysheaths ٠

خامسا : تحرر الفيريونات الكاملة : Liberation of mature virions

عند نهاية فترة التحضير Latent period للفيروسات المحللة يظهر فى الخلية بروتين فيروسى متأخر Viral specified late protein وهو الليسوزايم الفاجى Phage lysozyme (الانزيم المحلل الفاجى) ، وهو انزيم يهاجم طبقة الببتيد وجليكان الصلبة فى الجدار الخلوى البكتيرى ويذيبها ٠ لذلك فان الجدار يضعف تدريجيا الى أن ينفجر بواسطة الضغط الأسموزى المرتفع داخل الخلايا ، وتتحرر الفيريونات الجديدة ــ مع كل محتويات الخلية الى الوسط الخارجى ٠

تلك هى الخطوات العامة لتضاعف الفاجات ، ولو أن بعض الفاجات قد تشذ عن ذلك ... فمثلا الفاج اف٠دى fd وهو ذو شكل خيطى Filamentous ، ويحتوى على الحمض النووى د ن أ DNA ٠فعند تضاعف هذا الفيروس تتكون بروتينات المحفظة بالقرب من الغشاء الخلوى حيث يتواجد الحمض النووى د ن أ DNA الفيروسى ٠ وتحدث عمليات التركيب الذاتى للفيريونات الجديدة بالقرب من الغشاء الخلوى ، وعند اكتمال تركيب الفيريونات فانه يتم خروجها من الغشاء بظهور

بروزات من الغشاء تنفصل عن الخلية ثم تنتهى بتحرر الفيريونات الجديدة ٠ لذلك فان الخلية العائل لا تنفجر لتحرير الفيريونات الجديدة ، بل تظل حية وتستمر فى النمو خلال عملية خروج الفيريونات الجديدة٠

ظاهرة اقصاء الفيروسات: Virus Restriction

قد تكتسب خلايا البكتيريا العائل مقاومة للفاج نتيجة لحدوث طفرة فى موقع امتزاز الفاج كما ذكرنا فى خطوة امتزاز الفيريون على سطح الخلية ٠ أما النوع الثانى من مقاومة خلية البكتيريا للفاج فيرجع الى وجود انزيمات خاصة تسمى انزيمات الاقصاء Restriction enzymes تقوم بتحليل الحمض النووى د ن أ الغريب عن الخلية (مثل د ن أ الفيروس الذى يغزو الخلية عند اصابتها بالفاج) وتسمى هذه الظاهرة "ظاهرة اقصاء الفيروسات" وهى احدى الطرق التى تحمى بها الخلية نفسها من غزو الفيروسات٠

ظاهرة التعديل : Modification

تلجأ الفيروسات (وحتى الخلايا) الى تعديل حمضها النووى د ن أ لحماية مادتها الوراثية من انزيمات الاقصاء الخلوية ، وذلك باحلال قواعد نيتروجينية غير عادية محل القواعد النيتروجينية العادية فى الحمض النووى د ن أ ، فبعض سلالات البكتيريا تلجأ لادخال مجموعات ميثيل Methylation على بعض القواعد النيتروجينية بها كطريقة لحماية نفسها من انزيمات الاقصاء التى تنتجها بحيث لا تستطيع انزيمات الاقصاء الارتباط مع أماكن ارتباطها Binding site على الحمض النووى د ن أ نتيجة وجود القواعد النيتروجينية المعدلة ٠ وتحدث عملية اضافة مجموعات الميثيل هذه بواسطة انزيمات خلوية ، وكثيرا ما تحدث نفس الظاهرة للمادة الوراثية الفيروسية للفاجات عند غزوها

للبكتيريا فتكتسب الفاجات القدرة على التضاعف نتيجة تعديل مادتها الوراثية بواسطة الانزيمات الخلوية .

وهاتان الظاهرتان (ظاهرتا الاقصاء والتعديل) معروفتان من قديم الزمان وخاصة في فاجات لامدا (λ) حيث أن مرور الفاج في أحد سلالات خلايا العائل الى سلالة أخرى مخالفة يؤدى الى نقص كبير في كفاءة هذا الفاج على احداث بلاكات عند زرعه على السلالة الأخيرة ... وعند الحصول على سلالات فاج تحدث بلاكات بكفاءة عالية على السلالة الأخيرة ، ثم اعادة زرعه على السلالة الأولى يحدث نقصا كبيرا في سلالة الفاج الأخيرة على سلالة البكتيريا الأولى .

ويمكن توضيح ذلك بنتائج التجربة الموضحة في الجدول (١٦ ــ ١). فهذا الجدول يوضح أن فيريونات فاج لامدا (λ) الناتجة أثناء التضاعف على بكتيريا القولون E.coli سلالة ك ١٢ (K12) تتضاعف بكفاءة قدرها واحد (بمعنى أن كل جسيم فيروسى يحدث اصابة ضارية ، وبالتالى ينتج بلاك ، أما كفاءة مقدارها ١ × ١٠ ــ٤ فهى تعنى أن كل جسيم فيروسى واحد من بين كل عشرة آلاف جسيم يستطيع احداث اصابة ضارية بلاك .

جدول ١٦ : ١ : كفاءة فاج لامدا لتكوين البلاكات على سلالات بكتيريا مختلفة

الخلية العائل التى تكون عليها الفاج	كفاءة احداث البلاكات على	
	E. coli K12	E. coli B
E.coli K 12	واحد	١ × ١٠ ــ٤
E.coli B	٤ × ١٠ ــ٤	واحد

وعند حقن هذه الفيريونات الجديدة على بكتيريا القولون E. coli سلالة بى (B) فان كفاءته تنخفض الى 1×10^{-4} والعكس صحيح ... فمثلا نجد أن فيريونات لامدا التى تم انتاجها على سلالة بى (B) عند حقنها على سلالة ك ١٢ تنخفض كفاءتها من واحد الى 1×10^{-4} ، وبمعنى آخر يمكن القول أن جسيمات أى فاج يمكنها بنجاح اصابة خلايا نفس سلالة البكتيريا الناتجة منها بنفس الكفاءة ، ولكن اذا كان الفاج ناتج من سلالة بكتيرية مختلفة عن الخلية المصابة ، فان ٩٩,٩٩٪ من جسيمات الفاج لا تنتج بلاكات ، ويرجع ذلك لوجود انزيمات (اقصاء) محللة للأحماض النووية Endonucleases تقوم بتحليل الحمض النووى الغريب Foreign DNA (الذى تم تكوينه فى سلالة بكتيرية مختلفة تم حقنه فى الخلية المصابة) وتسمى هذه الظاهرة بظاهرة الاقصاء Restriction .

وفى المقابل من ذلك ، توجد الظاهرة الأخرى المعروفة باسم ظاهرة التعديل Modification حيث تستطيع بعض الفيروسات احلال قواعد نيتروجينية مختلفة عن القواعد النيتروجينية العادية ، وبذلك يصبح حمضها النووى د ن أ مقاوم للتحلل بواسطة انزيمات الاقصاء ، فتستطيع الفاجات لامدا الناتجة من سلالة البكتيريا (B) التضاعف بكفاءة عالية على بكتيريا جديدة من سلالة (B) نتيجة لتعديل حمضها النووى .

٢ـ تضاعف الفاجات المحتوية على الحمض النووى د ن أ حلقى مفرد السلسلة

تحتوى جسيمات هذه الفيريونات على حمض DNA حلقى مفرد السلسلة صغير جدا (بالنسبة للفيريونات الأخرى مثل فيريونات تى ذات الأرقام المزدوجة T even) فيحتوى الحمض النووى د ن أ لفيروس فاى اكس ١٧٤ (Ø X 174) على ٥٤٠٠ قاعدة نيتروجينية فقط تمثل ٩ جينات . وقد تم بالفعل معرفة ترتيب هذه القواعد بالكامل فى هذا الفيروس وهو من الفيروسات متعددة الأوجه .

ومن أمثلة الفيروسات الخيطية التابعة لهذه المجموعة فيروس أف - ١ (f1) وهو يحتوى على حوالى ٦٤٠٠ قاعدة نيتروجينية تمثل ثمانية جينات ، والملاحظ ان عدد الجينات على الأحماض النووية د ن أ - DNA لهذه الفيروسات تنتج بروتينات تقوم بنفس الوظائف . كما يلاحظ أيضا أن هذه الفيروسات لا توقف بناء المكونات الخلوية عند وصول الحمض النووى الفيروسى الى داخل الخلية ، كما سبق الاشاره اليه فى الفيروسات المحتوية على حمض د ن أ DNA المزدوج السلسلة.

ومما سبق ذكره ... يمكن تقسيم فاجات د ن أ الحلقى مفرد السلسلة الى قسمين أساسيين هما :

أ - عديد الأوجه : Icosahedral :

مثل فاج فاى . اكس ١٧٤ (Ø X 174) وفاج جى ٤ (G 4).

ب - خيطية : Filamentous :

مثل فاج اف - ١ (f1) وفاج ام ١٣ (M13)

ولقد كانت الفاجات المحتوية على حمض د ن أ وحيد السلسلة المذكورة أداة هامة فى دراسة تضاعف حمض د ن أ DNA لأن تضاعف حمض د ن أ DNA فى هذه الفيروسات يعتمد اعتمادا كليا على الانزيمات الخلوية التى تقوم بمضاعفة حمض د ن أ DNA الخلوى.

مراحل تضاعف الفاجات ذات الحمض النووى د ن أ الحلقى وحيد السلسلة :

ويمكن تقسيم دورة التضاعف لهذه الفاجات الى ثلاثة مراحل أساسية :

أولا : اصابة الخلايا Cell infection

ثانيا : تضاعف حمض د ن أ DNA الفيروسى :

أ ـ تكوين السلسلة المكملة (تكوين حمض د ن أ مزد وج السلسلـــة) Parental RF.

ب ـ تضاعف الحمض النووى البنوى مزد وج السلسلة لتكوين Progany RF

جـ ـ تكوين السلسلة المفردة من الحمض النووى البنوى مزد وج السلسلة.

ثالثا : اكتمال تكوين الفيروسات وتحررها .

وفيما يلى نعرض هذه المراحل بالتفصيل ...

أولا : الاصابة : Infection

تعتمد الاصابة بهذه الفيروسات للخلايا العائل على بروتين يسمى البروتين الموجه أو القائد Pilot protein وهذا البروتين الموجــه يوجد فى اماكن معينة من المحفظة . فمثلا فى حالة فاج فاى . أكـــس ١٧٤ (174 X Ø) يوجد هذا البروتين على الأركان الاثنى عشر للجسيم المتعدد الأوجه ، أما فى حالة الفاج الخيطى ام ١٣ (M13) فانـــه يوجد عند أحد نهايتى الفيريون الخيطى ، والذى يمتز على الطـــرف البعيد للزوائد الجنسية Sex pili للخلايا البكتيرية المذكـــرة . وهذا البروتين له عدة وظائف حيوية للفاج ، والوظائف التى يؤديهـــا هذا البروتين لا علاقة لها ببعضها ، ويمكن تلخيص الوظائف التـــى يقوم بها هذا البروتين فيما يلى :-

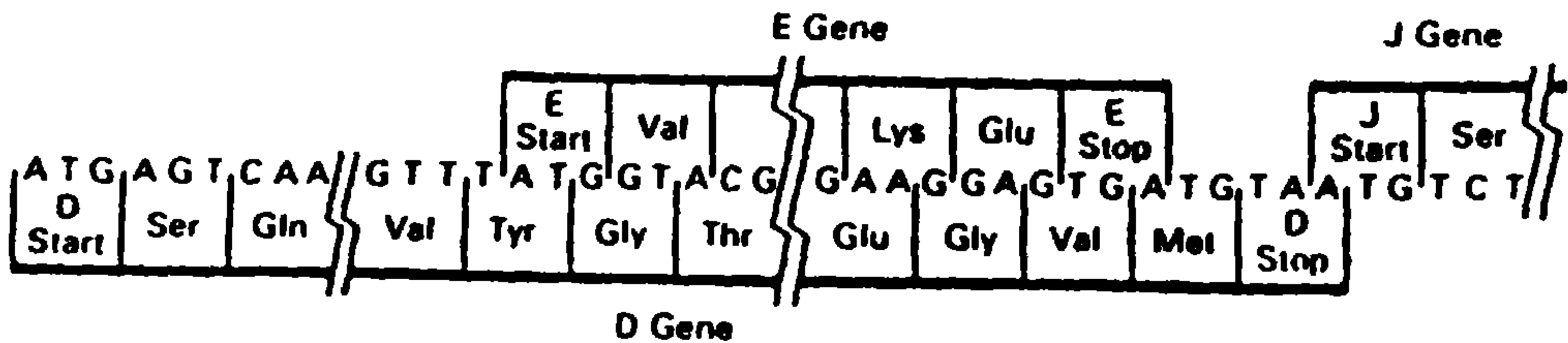
(١) يسبب امتزاز الفيريون على مواقع الامتزاز Receptors الخاصة به على سطح الخلية العائل .

(٢) بعد حدوث تغيرات تركيبية Conformational changes فى البروتين المذكور فانه يوجه الحمض النووى د ن أ DNA الى داخـــل الخلية العائل .

(٣) يسبب البدء في تضاعف الحمض النووى د ن أ الفيـروسى. ويكون ذلك عن طريق ربط د ن أ الفيروسى الى موقع تضاعف د ن أ الخلـــوى والموجود في مكان محدد من الغشاء الخلوى.

(٤) هذا البروتين هام لتكوين جسيمات الفيريون الكاملـــة Morphogensis. ومشاركة هذا البروتين في عدد من الوظائف الحيويـــة الهامة للفاج يعطى مثالا واضحا على استخدام المعلومات الوراثية بطريقة اقتصادية Genetic economy، فنظرا لتناهى صغر الحمض النـــووى د ن أ الحامل للمعلومات الوراثية للفاج كان لابد من الاستعمــــال الاقتصادى للمعلومات الوراثية القليلة بأقصى استفادة منها.

وأحد طرق زيادة الاستفادة من هذه المعلومات الوراثية الفيروسية هى استعمال بروتين واحد في عدة استعمالات مختلفة، وكذلك يوجـــد مثال واضح آخر على الاستعمال الاقتصادى للمعلومات الوراثية الفيروسية القليلة لهذا الفاج، وهو وقوع أجزاء من الجينات (المورثات) genes المختلفة فوق بعضها، بمعنى أن نفس الجزء من الحمض النووى د ن أ ـ الفيروسى يشترك في أكثر من جين gene شكل (١٦ــ٨) وراثـــى، أى انه يوجد ما يعرف بتداخل الجينات overlapping المختلفـــة لهذا الفاج.



شكل ١٦ــ٨ : تركيب الجينات على المادة الوراثية لفاج فاى ــ اكس ١٧٤. جين (E) مطلوب لتحليل الخلايا العائل يقع داخــــل جين (D) مطلوب لتجميع جسيمات الفيريونات وبذلك فان ترتيب القواعـــد النيتروجينية نفسه يسهم في انتاج نوعين مختلفين من البروتينات.

وقد سبق الاشارة الى أن هذا البروتين يوجد عند أحد نهايتى الفريونات الخيطية . ومعظم الفريونات الخيطية تمتز عند الطرف البعيد للزوائد الجنسية sex pili فى الخلايا البكتيرية المذكرة ، ويتم ادخال الحمض النووى د ن أ DNA الفيروسى الى داخل الخلية ، بينما يدمج بروتين المحفظة (الكابسيد الفيروسى) مع الغشاء الخلوى ليعاد استعماله فيما بعد عند تحرر الفيريونات الجديدة من الخلية المصابة .

ثانيا : تضاعف الحمض النووى د ن أ الفيروسى

: Viral DNA replication

يتضاعف الحمض النووى الفيروسى فى ثلاثة مراحل هى :

١ــ تكوين السلسلة المكملة : Complementary Strand

تسمى سلسلة الحمض النووى د ن أ المفردة التى توجد داخل جزيئات الفيريونات الكاملة بالسلسلة الموجبة Plus strand ، وعند دخولها الى سيتوبلازم الخلية العائل ، تكون أول خطوة هى تكوين السلسلة المكملة لها ، وتسمى السلسلة السالبة minus strand وجزىء د ن أ المزدوج السلسلة الناتج يسمى " الصورة الأبوية المتضاعفة " Parental replicative form ، وكثيرا ما يرمز لها بالرمز آر . اف (Rf).

ويتم تكوين السلسلة السالبة بواسطة انزيمات الخلية العائل .

ويبدأ تكوين السلسلة السالبة بتكوين قطعة صغيرة من الحمض النووى رن أ RNA عند أصل ثابت على السلسلة الموجبة للحمض النووى الفيروسى د ن أ الحلقى وحيد السلسلة ثم تبدأ بلمرة السلسلة السالبة من الحمض النووى د ن أ حتى يتم اكتمال حلقة الحمض النووى المزدوج ــ السلسلة ، فتزال قطعة الحمض النووى رن أ RNA ، وتستبدل بقطعة حمض نووى مكملة للسلسلة الموجبة فى هذا الموقع ، ثم تغلق السلسلة

السالبة بواسطة انزيم خاص . وتتم كل هذه العمليات بواسطة انزيمـــات الخلية العائل .

تسمى جزيئات الحمض النووى د ن أ المزدوج السلسلة الناتـــج بالصورة الأبوية المتضاعفة Parental RF كما سبق الاشارة آنفـــا . وبعد ذلك يبدأ تكوين الحمض النووى الريبوزى المرسال m-RNA مـــن السلسلة الموجبة والتى يتم ترجمتها الى بروتينات فيروسية .

٢ـ تضاعف النسخ الأبوية المتضاعفة Parental RF للحمض النووى د ن أ لانتاج النسخ البنوية المتضاعفة Progany RF :

تتضاعف النسخ الأبوية المتضاعفة RF للحمض النووى د ن أ بواسطة نظام يشبه نموذج الدائرة المتدحرجة السابق الاشارة اليه ، الى أن يتم تكوين عدد كافى من هذه النسخ المزدوجة السلسلة البنوية Progany RFs داخل الخلية ، فعلى سبيل المثال فى حالة فاج فــاى ـ اكس١٧٤ (Ø X174) يتكون ١٠ الى ٢٠ نسخة من النسخ المزدوجة السلسلـــة البنوية Progany RFs ، أما فى حالة الفاج الخيطى اف ـ ١ (f1)فانه يتكون من ١٠٠ ـ ٢٠٠ نسخة من هذه النسخ البنوية المزدوجـــة السلسلة .

يبدأ التضاعف للنسخ الأبوية Parental RF للحمض النـــووى المزدوج السلسلة بعمل فتحة فى احدى سلسلتى الحمض النووى د ن أ ـ المزدوج السلسلة بواسطة انزيم فيروسى Viral endonuclease (وهـو البروتين الموجه Pilot protein) عند موقع محدد من نسخ الـ RF ثم يرتبط هذا الانزيم الفيروسى بالطرف الذى يحتوى على مجموعـــة الفوسفات على ذرات الكربون الخامسة 5-end فى سلسلة الحمـــض النووى المفتوحة . ثم يتحرك هذا الانزيم الفيروسى على طول السلسلـــة السالبة ويقطع جزيئات الحمض النووى د ن أ على مسافات ينتج جزيئـــات د ن أ تحتوى على معلومات فيروسية كاملة ، ويعمل نفس الانزيم الفيروســى هذا على تكوين الرابطة بين طرفى الحمض النـــووى المستقيم ليكـــون بذلك حلقات من الحمض النووى د ن أ مفرد السلسلة .

٣- تكوين السلسلة المفردة الفيروسية من النسخ المتضاعفة البنوية للحمض النووى دنأ Progany RFs المزدوجة السلسلة

سبق الاشارة فى الخطوة السابقة الى أن السلسلة السالبة تظل حلقية ويتحرك عليها انزيم فيروسى endonuclease ليقطع السلاسل الموجبة عند نقطة محددة ، ثم ليقوم بربط نهايتى السلاسل الموجبة الناتجة مكونا جزئيات دنأ وحيدة السلسلة الحلقية .

وبذلك تعمل السلسلة السالبة كما لو كانت خاتما يطبع نسخ من السلسلة الموجبة بمساعدة الانزيم الفيروسى المذكور .

وبالرغم من تشابه معظم الفيروسات المحتوية على الحمض النووى دنأ حلقى وحيد السلسلة فى طريقة تضاعف الحمض النووى ، الا أنه توجد اختلافات بسيطة جدا فيما بينها لا نشير اليها هنا .

ثالثا : اكتمال تكوين الفيريونات وتحررها :

Morphogensis and Release of virions

توجد اختلافات واضحة فى هذه الخطوة الأخيرة لتكوين فيريونات كاملة وتحررها بين الفيروسات متعددة الأوجه والفيروسات الخيطية .
وكمثال على الفيروسات متعددة الأوجه مثل فيروس فاى - اكس ١٧٤ ØX 174 يلاحظ أن اكتمال تكوين الفيريونات يتم جنبا الى جنب مع تضاعف الحمض النووى الفيروسى ، فكلما اكتمل تكوين حلقة وحيدة السلسلة فانها سريعا ما ترتبط ببروتينات المحفظة التى تكون قد تم تكوينها فى الخلية . ولذلك فان حدوث طفرة تعطل بناء أيا من بروتينات المحفظة تعطل تضاعف الحمض النووى الفيروسى ولا تتكون أى فيريونات ، ويتم تحرر الفيريونات الجديدة فى النهاية بانفجار الخلايا Cell lysis.

أما الفيروسات الخيطية ، فلا تنفجر فيها الخلايا العائل ، كما أن اكتمال تكوين الفيريونات يسلك سبيلا آخر • فعند تكوين حلقات الحمض النووى الفيروسى وحيد السلسلة فان هذه الحلقات ترتبط ببروتين فيروسى خاص لتكوين مركب معقد من البروتين ـ د ن أ ، وهذا المركب المعقد يصل الى السطح الداخلى للغشاء الخلوى للخلية العائل • وهذا الغشاء الخلوى يحتوى على بروتينات المحفظة التى تركت عند غزو الفيروس الأصلى للخلية علاوة على بروتينات محفظة (جديدة) تم تكوينها أثناء تضاعف د ن أ الفيروسى • وعند وصول المركب المعقد (بروتين ـ د ن أ) الى السطح الداخلى للغشاء الخلوى ، فانه يلتقط وحدات بروتين المحفظة القديمة والجديدة لتكوين المحفظة أثناء مروره من الغشاء الخلوى الى الخارج • وتستطيع جسيمات الفيريون الخيطية المرور من الغشاء الخلوى نتيجة تفاعلات متزنة معقدة بين بروتينات المحفظة وبروتينات الغشاء الخلوى • لذلك فان نشاطات التمثيل الغذائى والنمو الخلوى لا تتأثر بالرغم من أن حوالى ١٠٠٠ فيريون خيطى يمكن افرازها من الخلية خلال جيل واحد • ولكن الطفرات التى تؤثر على انتاج البروتينات الفيروسية قد تقتل الخلية العائل • وهذه العلاقة الثابتة بين الفيروس والخلية العائل تشبه ما يحدث فى بعض الفيروسات الحيوانية •

٣ ـ تضاعف الفاجات المحتوية على دهون :

تحتوى بعض الفاجات على الدهون ، مما يجعلها أداة هامة لدراسة تداخل البروتينات والدهون فى تكوين الأغشية البيولوجية • وأكثر هذه الفاجات دراسة هى فاج بى ام ٢ PM2 وهو فاج متعدد الأوجه يحتوى على الحمض النووى د ن أ DNA مزدوج السلسلة حلقى مكون من حوالى ٩٠٠٠ قاعدة نيتروجينية • وتحتوى المحفظة على طبقة دهنية ذات سطحين محصورة بين طبقتين من البروتين ذو الشكل المتعدد الأوجه Icosahedral .

ومن الملاحظات الغريبة وجود اختلاف كبير بين تركيب الفوسفوليبد فى الفيروس عن مثيله فى الغشاء الخلوى للخلايا العائل بالرغم من أن كلا

النوعين من الفوسفوليبد يتم تكوينهما بواسطة الخلايا العائل · وفيما يبدو أن فوسفوليبد الفيروس يتم انتقاءها من بين فوسفوليبدات الخلية بواسطة بروتينات المحفظة ·

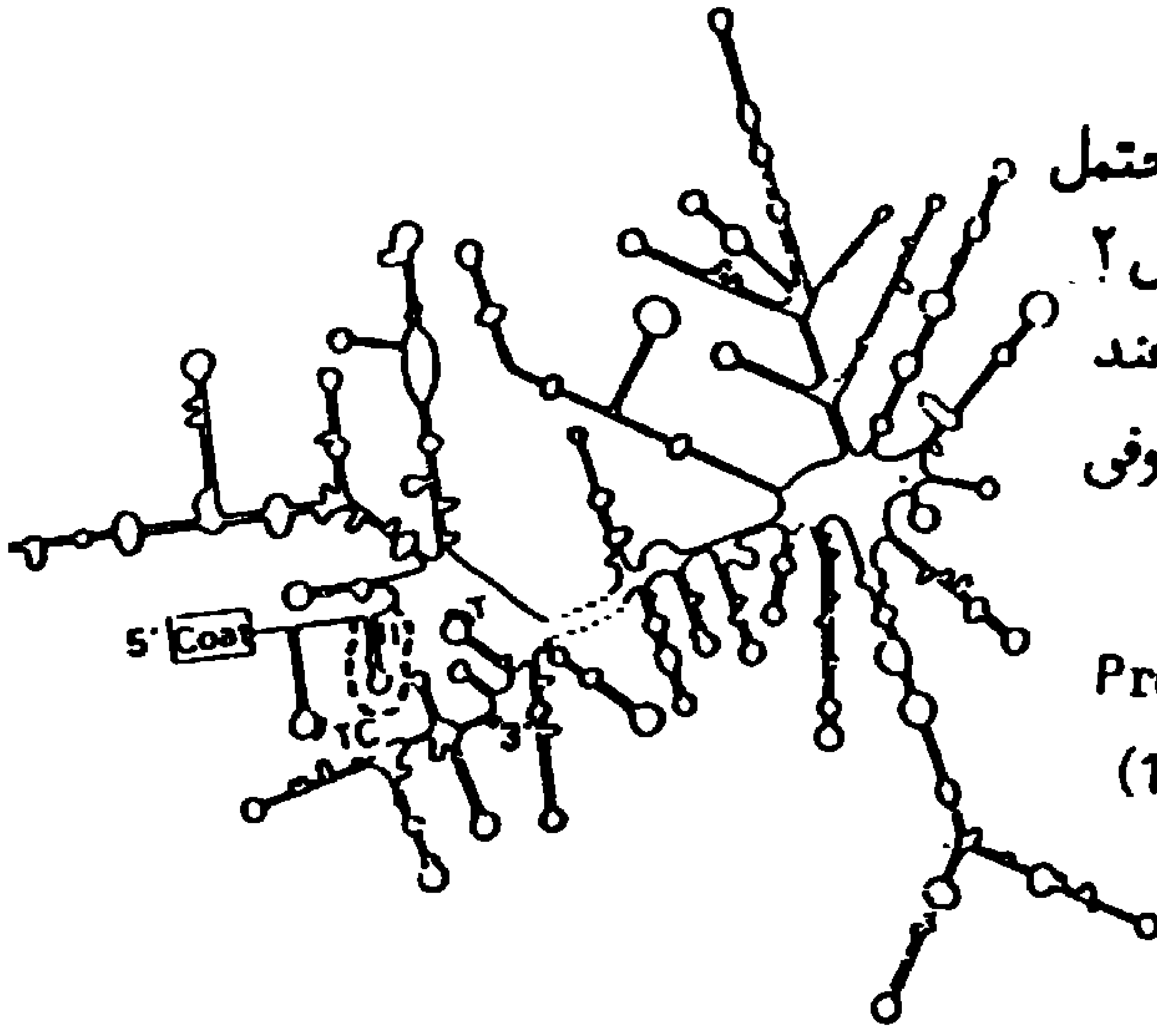
وتمر خطوات التضاعف في هذه الفيروسات مثل ما سبق ذكره ···

٤ ــ تضاعف الفاجات المحتوية على الحمض النووى رن أ :

عزلت الفاجات متعددة الأوجه الصغيرة بواسطة زندر Zinder ، وسميت حينذاك باسم الفاجات المتخصصة للذكور Male-specific phages · ذلك أن هذه الفاجات كانت تمتز على الزوائد الجنسية Sex pili لخلايا البكتيريا المذكرة ، ويبدو أن هذه الفاجات تستعمل هذه الزوائد الجنسية كقنوات لحقن حمضها النووى رن أ RNA داخل الخلية · وتنقسم هذه الفاجات الى عدة مجاميع وفقا لترتيب القواعد النيتروجينية فيها وخواصها السيرولوجية ··· فمثلا توضع فاجات اف ــ ٢ (f2) ، ام اس ــ ٢ (MS2) ، ار ١٧ (R17) في مجموعة واحدة ، وفاج كيو ــ بيتا (QB) في مجموعة ثانية ، وتحتوى جميع هذه الفيروسات على جزيء رن أ RNA وحيد السلسلة في حدود حوالى ٣٥٠٠ قاعدة نيتروجينية · وبعض هذه الفاجات قد أمكن التوصل الى ترتيب القواعد النيتروجينية فيه مثل فاج ام اس ــ ٢ (MS2) ، ومن دراسة ترتيب القواعد في مثل هذا الفيروس أمكن التعرف على وجود أجزاء متعددة من الحمض النووى رن أ يمكنها تكوين سلاسل مزدوجة.

لذلك ، فمثل هذه الفاجات لديها القدرة على تكوين تركيب ثانوى معقد Secondary وتركيب ثالث أكثر تعقيدا Tertiary structure كما في الشكل (١٦ ــ ٩) ·

والتركيبة الوراثية لهذه الفيروسات هى أبسط تركيبة وراثية بين جميع الفيروسات ولا يحتوى حمضها النووى على أكثر من ثلاث جينات ،



شكل ١٦ــ٩ : التركيب الثانوى المحتمل للحمض النووى رنأ الفيروسى لفاج ام اس٢ (MS2) جين الريبليكاز هو الموجود عند 3'end وجين بروتين المحفظة عند 5'end وفى الوسط جين البروموتر.

Proc - Nat. Acad. Sci (USA) 70:2605 (1973)

أى لا يمكن تكوين أكثر من ثلاث بروتينات وهم بالترتيب (من اتجاه مجموعة الفوسفات على ذرة الكربون رقم ٥ فى الريبوز الى مجموعة الفوسفات على ذرة الكربون رقم ٣ فى الريبوز 5'→3' sequence) ...

١ـ بروتين أ A protein , وهو بروتين له وظائف عديدة ، كما فى حالة البروتين الموجه الذى تنتجه فاجات دنأ DNA الوحيدة السلسلة الحلقية السابق مناقشتها .

٢ـ البروموتر promoter لبروتين المحفظة . وهو البروتين الذى يكون الغطاء البروتينى لجسيمات الفيريونات الكاملة .

٣ـ أنزيم الريبليكاز الفيروسى Viral special replicase

وهذا الأخير عبارة عن أنزيم خاص يقوم ببناء حمض نووى رنأ RNA منسوخا من جزيء رنأ الفيروسى . ويسمى هذا الانزيم RNA dependent RNA polymerase وذلك لاختلاف العملية التي يقوم بها عن ما يحدث فى سائر الأحياء الأخرى . ففى سائر الأحياء الأخرى يتكون حمض نووى رنأ RNA بالنسخ من جزئيات دنأ DNA (وليس من جزئيات رنأ RNA) بفعل انزيم DNA dependent RNA polymerase وأنزيم الريبليكاز المذكور لا يضاعف رنأ RNA الخلوى ، ولذلك فهو انزيم على درجة عالية من التخصص ، ويمكنه التمييز بين رنأ الفيروسى عن ذلك الخلوى .

والحمض النووى رن أ RNA الفيروسى فى هذه الحالة يلعب دورين أساسيين فى نفس الوقت ، فهو يعمل أساسا كمادة وراثية genome وكذلك كحمض نووى ريبوزى مرسال massenger RNA يمكن ترجمـــــة المعلومات الموجودة عليه بواسطة الريبوسومات لانتاج البروتينات الفيروسية داخـــل الخلية · ولهذا السبب الأخير كانت هذه الفيروسات هامة جدا فى دراسة بناء البروتينات خارج الخلايا In vitro · فمعرفة ترتيب القواعـــــد النيتروجينية فى بعض هذه الفيروسات مكن العلماء من دراسة أماكـــن ارتباط الريبوسومات بالحمض النووى رن أ المرسال وأماكن بداية ونهايـــة الجينات · وأهمية التراكيب الثانوية لـ رن أ فى تنظيم عمليات بنــــاء البروتين فى الخلايا ·

تضاعف الحمض النووى رن أ الفيروسى RNA replication

يتضاعف رن أ لفاجات رن أ بطريقة مماثلة لما يحدث فى بعض الفيروسات الحيوانية Animal viruses المحتوية على رن أ أيضا · وفى كلا الحالتين تمر خطوات التضاعف بمراحل وسطية هى :

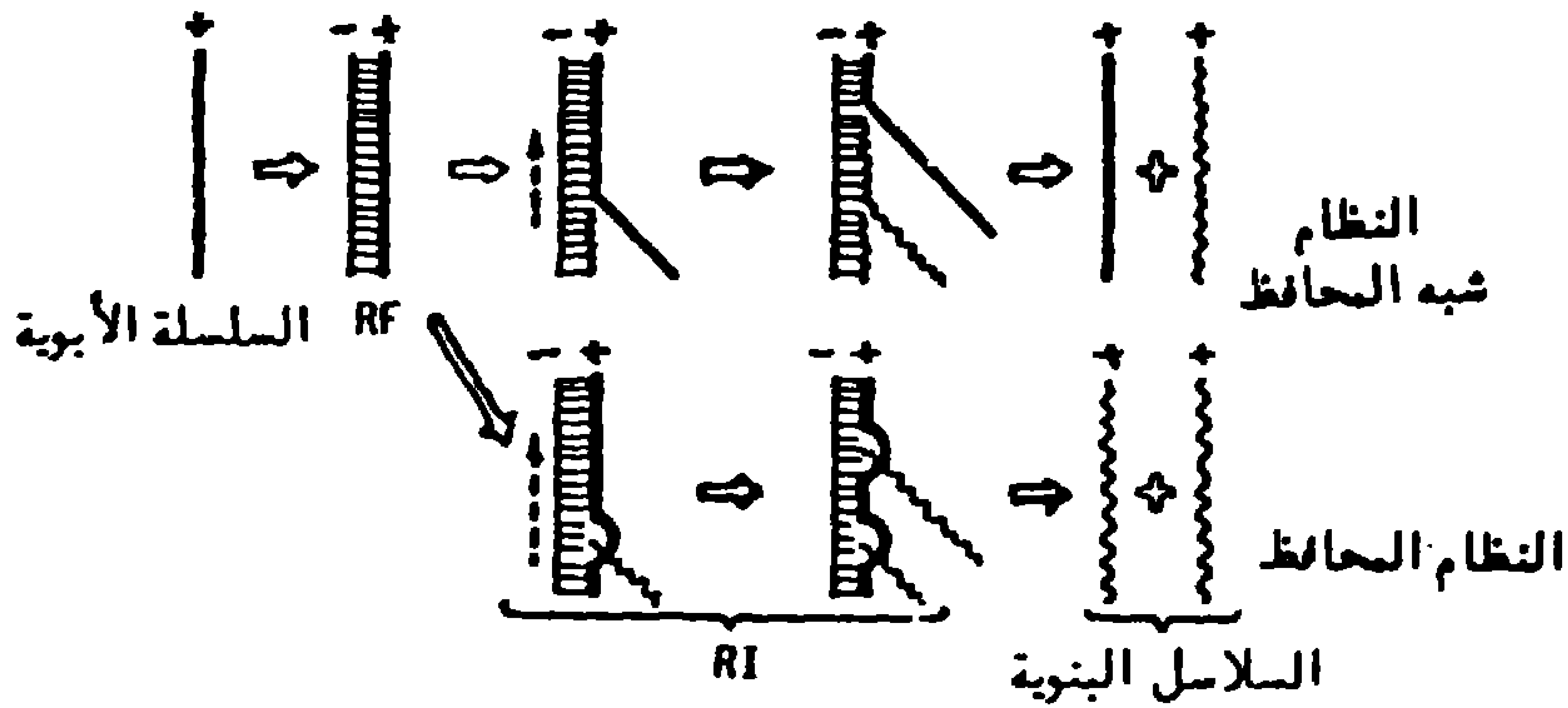
أ ـ النسخ المتضاعفة : Replicative Intermediate(RF)

وهى جزيئات رن أ مزدوج السلسلة تشبه الى حد كبير مركبات (RF) التى تتكون عند غزو الخلايا بواسطة فيروسات د ن أ وحيد السلسلة، وهذه الجزيئات مقاومة تماما لفعل الانزيم المحلل للحمض النووى رن أ RNase وحيـد السلسلة ·

ب ـ المتضاعفة الوسطية Replicative Intermediate (RI)

وهى عبارة عن جزيئات رن أ مزدوجة السلسلة ، ولكن لها طرف أو أكثر عبارة عن سلسلة رن أ وحيدة السلسلة · لذلك فهذه المتضاعفـــة الوسطية تتحلل تحللا جزئيا بفعل الانزيم المحلل للحمض النووى رن أ ــ RNase- وحيد السلسلة ·

وعندما يدخل الحمض النووى رن أ (السلسلة الموجبة) الى الخلية ، فانه يتحول الى النسخ المتضاعفة (RF) ببناء السلاسل السالبة Minus strand . وتتحول النسخ المتضاعفة (RF) الى المتضاعفة الوسطية (RI) لتنتج فى النهاية جزئيات رن أ وحيدة السلسلة الموجبة وفقا لواحد من النظامين الموضحين فى الشكل (١٦ـ١٠) .



شكل ١٦ـ١٠ : المراحل الوسطية فى تضاعف الحمض النووى رن أ لفيروسات رن أ بالنظامين شبه المحافظ والمحافظ .

النظام الأول : النظام شبه المحافظ Semi conservative

تتكون النسخ المتضاعفة (RF) بتكوين السلسلة السالبة المكملة للسلسلة الفيروسية (الموجبة) ثم يحدث شبه انفصال للسلسلة الموجبة عن السلسلة السالبة مكونا المتضاعفة الوسطية RI . ثم يتكون على السلسلة السالبة المنفصلة جزئيا عن رفيقتها العديد من السلاسل الموجبة (الفيروسية) .

النظام الثانى : النظام المحافظ Conservative

بعد تكون النسخ المتضاعفة (RF) لا تنفصل السلسلتين عن

بعضهما الا فى اماكن تكون السلاسل الموجبة ، وتكون بذلك المركبات المتضاعفة الوسطية RI أكثر مقاومة للانزيم المحلل للحمض النووى رنأ — المفرد السلسلة RNase .

وهناك تنسيق كامل لانتاج البروتينات الثلاثة مع تضاعف الحمض النووى الفيروسى رنأ فينتج كميات كبيرة من بروتينات المحفظة وكميات محددة من الريبليكاز RNA Replicase وجزيء واحد من بروتين أ A protein لكل جزيء RNA فيروس. وبعد تركيب الفيروسات الجديدة يتم تحررها بانفجار الخلايا .

الفصل السابع عشر

الفيروسات البكتيرية المعتدلة

Temperate Bacterial Viruses

واكساب البكتيريا القدرة الكامنة على التحلل

Lysogeny

كما ذكرنا سابقا ، أن الفاجات يمكن تقسيمها عموما الى قسمين : القسم الأول هو الفاجات الضارية virulent phages وهذه الفيروسات تسيطر على نشاط الخلية وتوجهها لبناء مكونات الفيروس بمجرد غزوها للخلايا ، وتبدأ مباشرة في دورة التحلل Lytic cycle. وأثناء قيام الفاج بمضاعفة نفسه داخل الخلية يعرف باسم الفاج الخضري Vegetative Phage الى أن يتم تكوين فيريونات كاملة تتحرر بانفجار الخلايا العائل .

أما القسم الثاني من الفاجات فهو يشمل الفاجات المعتدلة Temprate Phages وهذه الأخيرة ولو أن لها القدرة على تحليل الخلايا العائل أيضا ... الا أنها أحيانا لا تكون اصابتها ضارية . بل أن الحمض النووى الفيروسي على العكس من ذلك يخضع لسيطرة الخلية ويظل كامنا ، ويسمى في هذه الحالة الفاج الأولى Prophage وتظل الخلية تعمل بصورة عادية تماما . الا أن هذه الخلية التى تم غزوها بأحد الفيروسات المعتدلة تكتسب القدرة الكامنة على التحلل (لايسوجنى Lysogeny) أى تصبح الخلية ذات قدرة كامنة على التحلل (لايسوجينيك) ، وترجع هذه القدرة الكامنة على التحلل الى امكانية تحول الحمض النووى الفيروسى الكامن المسمى فاج أولى الى الحالة الخضرية (فاج خضرى) ، والقدرة الكامنة على التحلل Lysogenic بتحول الفاجات الى حالة الفاج الأولى تعتبر طريقة هامة لحفظ النوع في الفيروسات ، لذلك فان أهمية الفيروسات المعتدلة في حفظ النوع تتجاوز الفيروسات الضارية - كما ذكر برنت Burnet عام ١٩٢٩ حيث أن اصابة الأحياء الراقية بالفيروسات الضارية سيؤدي الى اهلاك هذه

الأحياء الراقية ، مما يؤدي الى عدم توفر الكائنات العائل لتلك الفيروسات بعد فترة زمنية ٠

أما الفيروسات المعتدلة فانها يمكنها المعيشة والانتشار فى صورة فيروسات أولية Pro-virus وحفظ نوعها مع الكائنات العائل ٠

وعلى ذلك ... عندما تغزو جسيمات الفاج المعتدلة Temprate phage خلية عائل مناسبة ، فان المادة الوراثية الفيروسية تدخل فى احدى دورتين هما :

(١) اما أن تدخل دورة التحلل Lytic cycle ويتحول الفاج الى الحالة الخضرية vegetative state ويتضاعف لينتج العديد من الفيريونات الكاملة ، وتنتهى هذه الدورة بتحلل الخلايا Cell lysis وتحرر الفيريونات٠

(٢) واما أن تدخل الفيروسات دورة كمون التحلل او القدرة الكامنة على التحلل Lysogenic cycle وفيها يتحول الفاج الى فاج أولى ، وعند الانقسام فان كل خلية تحتوى على فاج أولى ، وتكون جميع الخلايا الناتجة عن هذه الخلية محتوية على نسخة من الفاج الأولى ، فتتكون مستعمرة كاملة من خلايا ذات قدرة كامنة على التحلل ٠

ـ العوامل التى تحدد اتجاه الفاج المعتدل فى الخلايا المصابة

عند خلط معلق من جسيمات فاج معتدل Temprate phage مع معلق بكتيريا تصلح كعائل لهذا الفاج بأعداد متساوية بحيث ان كل خلية بكتيرية تصبح مصابة ، فان بعض الخلايا تدخل فى دورة التحلل مباشرة وتنتهى بانفجار الخلايا Cell lysis وتحرر فيريوناتها الجديدة ٠

بينما تدخل بعض الخلايا المصابة فى الدورة اللايسوجينيـــــة (دورة كمون التحلل) وتتحدد نسبة كل نوع من الخلايا (Lytic or lysogenic) على ثلاث عوامل اساسية هى :

١ــ الصفات الوراثية للخلايا ·
٢ــ الصفات الوراثية للفاج ·
٣ــ الظروف البيئية ·

وقد أمكن بتغيير هذه العوامل المختلفة تفهم ما يحدث فـــى الخلية عند غزوها بأحد الفاجات المعتدلة ·

ـ العمليات التى تتم فى الخلايا عند اصابتها بأحد الفاجات المعتدلة :

بعد اجراء العديد من التجارب أمكن التوصل الى ما يحدث فى الخلية عند غزوها بأحد الفاجات المعتدلة · ففى كل خلية تم غزوها حديثا تحدث ثلاث عمليات فى أوقات متقاربة جدا · وتوقيت هذه العمليات الثلاث هو الذى يحدد ما اذا كانت الخلية ستتجه الى دورة التحلل أو دورة ــ كمون التحلل (الدورة اللايسوجينية) وهذه العمليات الثلاث هى :

(١) يتم نسخ المعلومات الوراثية الفيروسية وترجمتها لانتـــاج البروتينات المبكرة early proteins وهذه البروتينات المبكـــرة تشمل جزيئات مثبطة Repressor تثبط مضاعفة المادة الوراثيـــة الفيروسية Viral genome replication كما تثبط نســــخ المعلومات الوراثية منه وبالتالى تثبط ترجمتها الى بروتينات·

(٢) يتم تضاعف المادة الوراثية الفيروسية Viral genome replication.

(٣) واحد أو أكثر من المادة الوراثية الفيروسية يتحول الـــى صورة الفاج الأولى.ويتحدد مصير الخلية المصابة بالفاج المعتـــدل Temprate phage على نتيجة السباق بين هذه العمليات الثـلاث·

فاذا تم تضاعف المادة الوراثية الفيروسية وتم تكوين بروتينات محفظة كافية لتكوين جزىء فريون واحد أو أكثر ، وتم انتاج انزيم الليسوزايم lysozyme قبل انتاج كمية كافية من جزئيات المثبط Repressor فان الخلية تدخل الدورة المحللة lytic cycle. أما اذا تم انتاج كمية كافية من الجزئيات المثبط (Repressor) قبل تكوين فيريونات كاملة ، فان المادة الوراثية الفيروسية تتحول الى فاج أولى ، وتكتسب الخلية القدرة الكامنة على التحلل (وتصبح الخلية ليسوجينية Lysogenic).

وفى الخلايا ذات القدرة الكامنة على التحلل Lysogenic cell يستمر الفاج الأولى Prophage فى انتاج المثبط Repressor ،وبذلك يمنع الفاج الأولى من التحول الى الحالة الخضرية لانتاج فيريونات كاملة.

ومن الملاحظ أن جزيئات المثبط لا تمنع مضاعفة جزىء الفاج الأولى المتكامل مع كروموسوم الخلية عند انقسام الكروموسوم تمهيدا لانقسام الخلية ، لذلك فان هناك اعتقادا بأن تضاعف المادة الوراثية لانتاج فيريونات كاملة لا يتم بنفس خطوات تضاعف الكروموسوم الخلوى تمهيدا لانقسام الخلية.

وعلى أى حال فان هناك نوعين مختلفين من اكساب الخلية القدرة على التحلل (لا يسوجينى Lysogeny) نوضحهما فيما يلى :

أولا : اكساب الخلايا القدرة الكامنة على التحلل من نوع لامدا (λ) Lambda

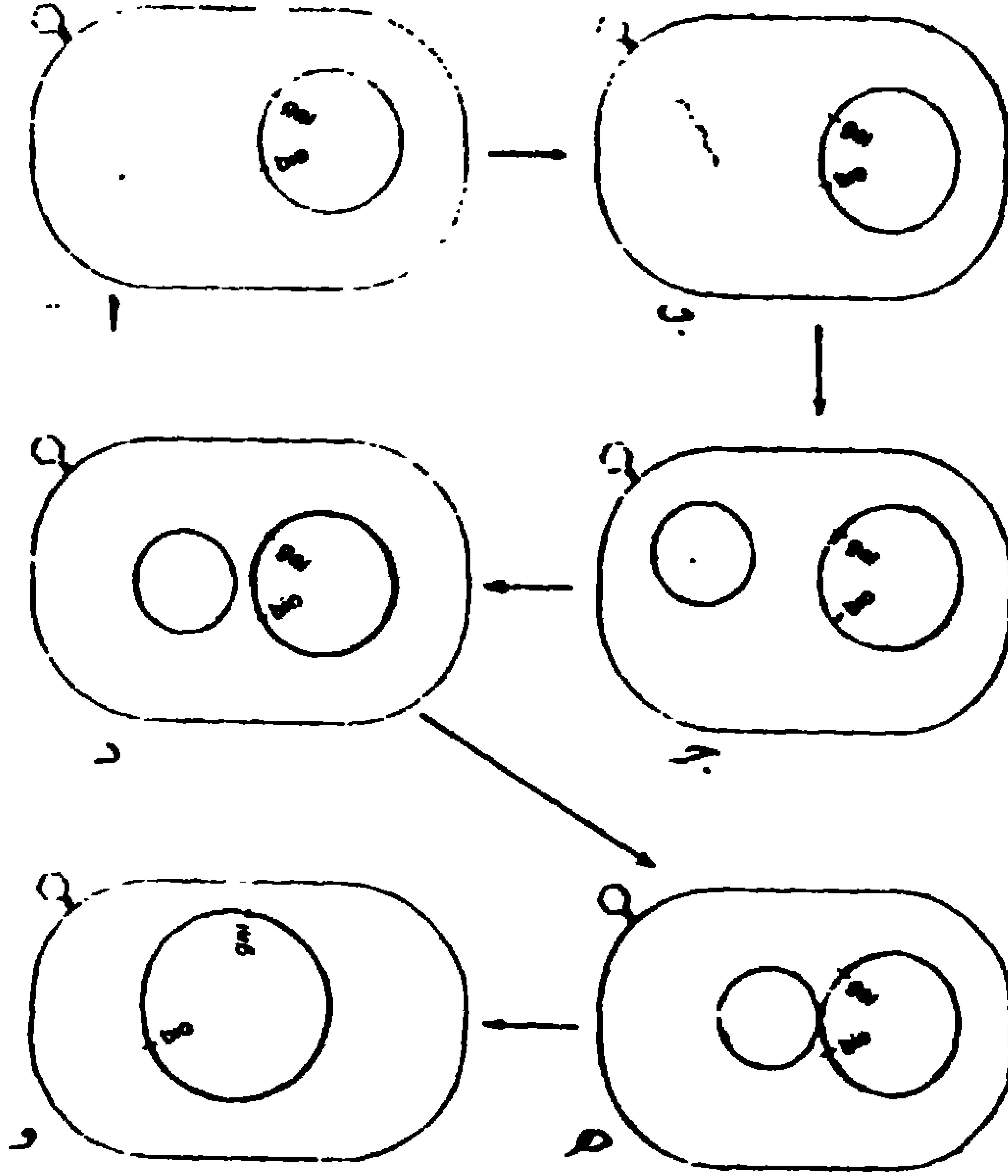
اكتشف فاج لامدا (λ) أولا كفاج أولى فى سلالات لبكتيريا القولون المسماة أشريشا كولاى ك ١٢ E. coli K12. فعند تنمية مزرعة من هذه السلالة (ك ١٢) ـ K12 فى المختبر يلاحظ أن خلية واحدة من بين كل عشرة آلاف (١٠ ٤) خلية تنفجر وينتج عن انفجارها

فريونات لامدا (λ) كاملة . كما أن هناك حدث آخر أكثر ندرة من ذلك ، وهو أن احدى الخلايا البنوية المنقسمة لا تتسلم نسخة من الفاج الأولى ، كما في باقي الخلايا الناتجة عن الخلية الأم . وهذه الخلية التي لا تتسلم نسخة من الفاج الأولى تسمى الخلية التي شفيت Cured cell . ويعني ذلك أن هذه الخلية فقدت القدرة الكامنة على التحلل فأصبحت خلية غير لا يسوجينية Non-lysogenic .

فاذا عزلت هذه الخلية التي شفيت وتم زراعتها ، فانها تنتج مزرعة خلايا شافية Cured cells . هذه المزرعة يمكن اعادة اصابتها بفاج لامدا . وبالتالي تتحول مرة ثانية الى خلايا ذات قدرة كامنة على التحلل (لايسوجينية lysogenic) ولو كان فاج لامدا المستخدم في اعادة اصابة هذه الخلايا ذو طفرة معينة ، فان الخلايا المصابة تصبح ذات قدرة كامنة على التحلل لانتاج فاج لامدا يحتوى على هذه الطفرة بعينها .

مكان الفاج الأولى لامدا (λ) في الخلية ذات القدرة الكامنة على التحلل

أثبتت العديد من تجارب التزاوج بين البكتيريا غير اللايسوجينية والبكتيريا اللايسوجينية من سلالة بكتيريا القولون ك ١٢ K12 E.coli أن الفاج الأولى لامدا (λ) يتكامل مع كروموسوم الخلية البكتيرية في موقع محدد بين مورثات جال Gal (وهى المورثات المسئولة عن تمثيل سكر الجلكتوز) وبين مورثات بيو Bio (وهى المورثات المسئولة عن تكوين البيوتين Biotin في الخلية) وهذا الموقع المحدد تترتب فيه القواعد النيتروجينية بترتيب مماثل للقواعد النيتروجينية على موقع محدد على المادة الوراثية للفاج الأولى لامدا (λ) . ويحدث هذا التكامل نتيجة كسر واعادة ارتباط Break and reunion بين جزيئ الحمض النووى البكتيرى والفيروسى على صورة خطين متعامدين أو اتصال مزدوج أو العبور الوراثى cross over كما في الشكل (١٧-١) .



شكل ١٧ـ١ : خطوات تكوين الفاج الأولى لامدا (λ)

أ ـ امتزاز الفاج على الخلية .

ب ـ حقن الحمض النووى داخل الخلية .

جـ ـ تحول الحمض النووى من الصورة المستقيمة الى الصورة الحلقية

د ـ انطباق الترتيبات المتماثلة من القواعد فى كلا المادتين الوراثيتين

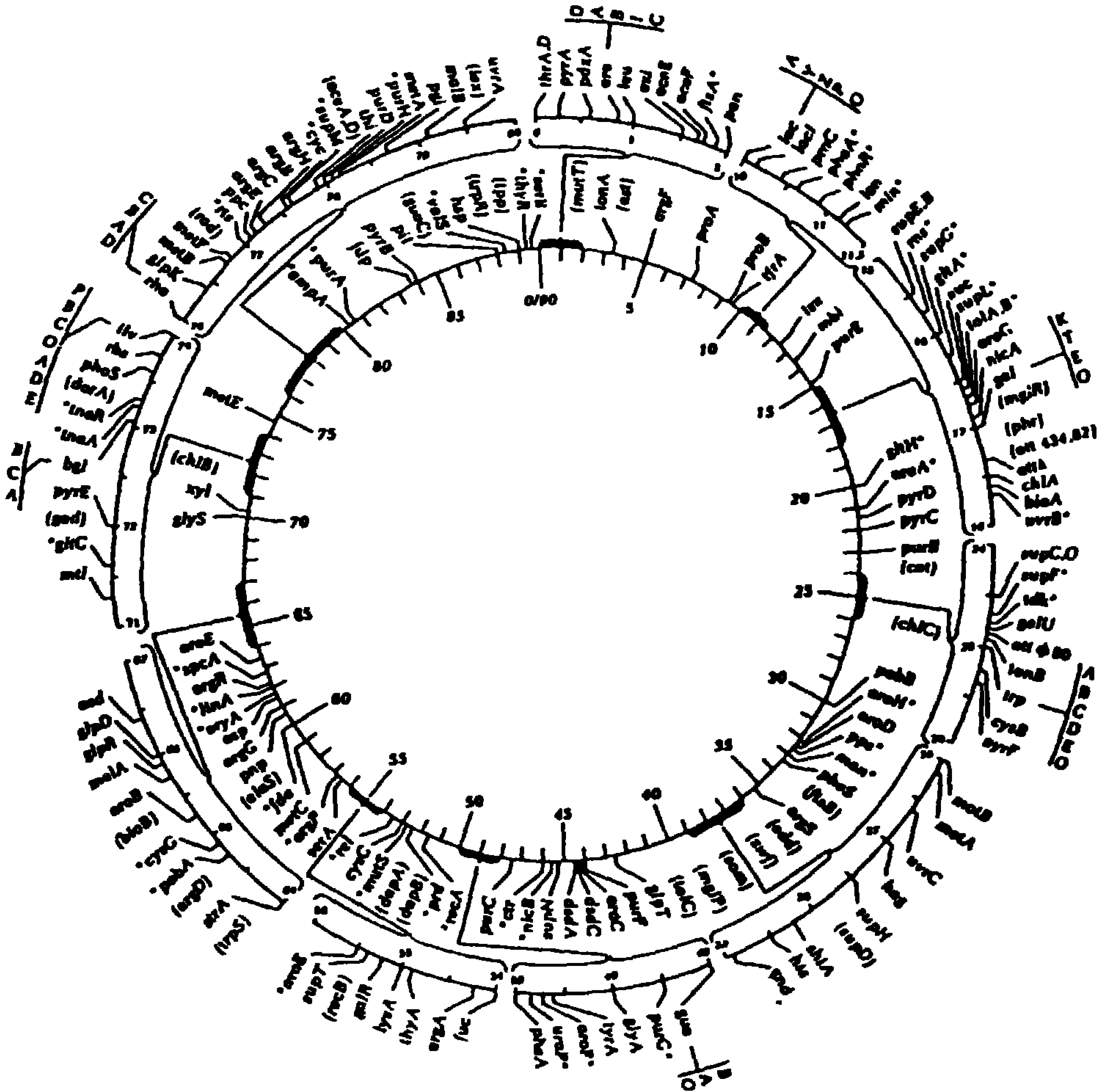
هـ ـ كسر واعادة اتصال الحمضين النوويين لكل من الفاج والبكتيريا فى صورة خطين متعامدين أو اتصال مزدوج (العبور الوراثى Cross-over) .

و ـ المادتين الوراثيتين للفاج والخلية البكتيرية أصبحتا حلقة واحدة .

لاحظ وجود المادة الوراثية للفاج بين مورثات جال gal ، بيو bio

ومن الفاجات الشبيهة بفاج لامدا (λ) يوجد فاج آخر معروف يسمى فاج فاى ٨٠ (Ø 80) وهذا الفاج يتكامل مع الكروموسوم البكتيري فى موقع مقارب لموقع المورثات المسئولة عن بناء الحمض الأمينى تربتوفان ، ويرمز لهذا الموقع بالرمز trp .

وبعد دراسات وراثية عديدة أمكن وضع خريطة توضح اماكن الجينات (المورثات) على كروموسوم الخلية البكتيرية . والشكل (١٧-٢) يوضح الخريطة الوراثية Genetic map لسلالة بكتيريا القولون ك ١٢ (E. coli K12) وفيها يبدو موقع الفاج لامدا (λ) ونوعين آخرين من الفاجات عند موقع قريب من موقع الدقيقة ٢٠ ، أما فاج فاى ٨٠ (Ø80) فموقعه عند حوالى الدقيقة ٢٥ تقريبا .



شكل ١٧-٢ : الخريطة الوراثية لبكتيريا القولون E. coli K12 والمورثات موضحة بالحروف الثلاثة الأولى منها

عن تايلور وتروتر Taylor and Trottor عام ١٩٧٢م .

Bacteriological Review 36, 504 (1972)

وقد أمكن بعد دراسات عديدة عمل خريطة وراثية للمادة الوراثية لفاج لامدا • ومع أن المادة الوراثية توجد فى صورة مستقيمة مفتوحة فى جسيم الفاج (الفيريون) ، الا أن هذه الصورة تتحول الى الصورة الحلقية فور دخولها الخلية المصابة • ويتم التحول الى الصورة الحلقية بفضل وجود قواعد مكملة لبعضها فى نهايتى جزئ دنأ الفيروس •لذلك تسمى هذه النهايات بالنهايات اللاصقة Cohesive ends• (شكل ١٤ـ١١) •

ثانيا : اكساب الخلايا القدرة الكامنة على التحلل (لايسوجينى) من نوع بى ١ (P1) :

يختلف هذا النوع من اللايسوجينى عن النوع السابق (نوع لامدا) من زاويتين مختلفتين هامتين هما :

(١) أن جميع تجارب التزاوج وتكوين الخلطات الوراثية Genetic recombination قد فشلت حتى الآن فى تحديد موقع محدد للفاج الأولى على الكروموسوم البكتيرى•

(٢) أن الفاجات التى تسبب هذا النوع من اللايسوجنى(اكساب الخلايا القدرة الكامنة على التحلل)من نوع بى ١ تنقل الجينات الوراثية البكتيرية بطريقة تختلف تماما عما يحدث فى فاج (λ) لامدا •فجزيئات فاج لامدا الناقلة للصفات الوراثية تكون معظم المادة الوراثية فيها هى مادة وراثية فيروسية وقليل من المورثات البكتيرية التى تكون ملاصقة لموقع فاج لامدا (λ) على الكروموسوم البكتيرى • أما فى جسيمات فاج بى ١ (P1) الناقلة للصفات الوراثية البكتيرية تكون معظم المادة الوراثية فيها أو كلها عبارة عن مادة وراثية بكتيرية • وقد تكون أى قطعة من كروموسوم البكتيريا وليس قطعة بعينها ••• لذلك فان جسيمات الفيروس بى ١ (P1) الناقلة للصفات الوراثية Transducing Particle

تستطيع نقل أي من الصفات الوراثية البكتيرية من خلية الى أخرى بنسب متساوية ٠

وفيما يبدو أن د ن أ الخاص بجسيمات فيروس بى ١ لا تندمج مع كروموسوم الخلية ولكنها تظل فى الخلية كوحدة مستقلة بعكس ما يحدث فى فاج لامدا حيث يندمج حمضه النووى مع كروموسوم الخلية مكونا حلقة واحدة ٠ ويعتقد أن د ن أ الخاص بفيروس بى ١ يتضاعف نتيجة اتصاله بأماكن فى الغشاء الخلوى مثله فى ذلك مثل الكروموسوم الخلوى أو جزيئات د ن أ الأخرى الموجودة فى الخلية مثل الايبيسوم Episome أو البلازميدات الأخرى Plasmids ٠ ومن الملفت للنظر انه قد تم عزل بعض سلالات لامدا غير القادرة على الاندماج مع الكروموسوم ٠ ولذلك فان تلك السلالات تسلك سلوكا مماثلا لفيروس بى ١ ويتضاعف مستقلا عن الكروموسوم وينقل أى صفة وراثية بنفس الدرجة بغض النظر عن مدى قربها أو بعدها عن موقع اندماج لامدا على الكروموسوم البكتيرى ٠

كمون الفاج وحثه Phage Repression and Induction

ان ميكانيكية كمون الفاج Phage repression والتى ينتج عنها عدم دخول الفاج فى دورة التحلل وبالتالى اكساب الخلية المصابة القدرة الكامنه على التحلل Lysogenic state قد درست باستفاضة فى سلالة بكتيريا القولون المعروفة باسم اشريشيا كولاى ك١٢ لامدا (λ) E. coli strain K12 ٠ وقد وضح من تلك الدراسة أن المادة الوراثية لفاج لامدا (λ) genome يحتوى على مورث يسمى (مورث سى ١ Gene C_1) وهذا المورث يحمل المعلومات الوراثية اللازمة لبناء بروتين مثبط repressor protein ٠ وهذا المثبط البروتينى ذو قدرة خاصة على الارتباط بموقع استقبال محدد على المادة الوراثية لفاج لامدا (λ). وعند ارتباط المثبط مع موقع الاستقبال receptor site فان الحمض النووى د ن أ الفيروسى لا يتضاعف بنفسه ولا تتم ترجمة المعلومات فيه الى بروتينات٠ ومن الملاحظ أن هذا المثبط لا يمنع تضاعف الحمض

النووى د ن أ الفيروسى عند وجوده مرتبطا (مندمجا) من الحمض النووى د ن أ البكتيرى . بما يدل على أن تضاعف الحمض النووى البكتيرى يتم بنظام مختلف عن ما يحدث فى نظام تضاعف الحمض النووى الفيروسى ، وعند وجود موقع الاستقبال receptor خاليا من المثبط البروتينى فان الحمض النووى د ن أ الفيروسى يتضاعف بسرعة دون أى سيطرة من الخلية ، كما يتم ترجمة المعلومات الوراثية عليه الى بروتينات فيروسية .

وقد أمكن انتاج طفرات ضارية virulent من الفيروسات المعتدلة temprate phage باحداث طفرات فى كل من المورث سى ١ (C_1) أو فى موقع الاستقبال المذكور ، فالطفرة فى المورث سى ١ تؤدى الى انتاج بروتين مثبط غير فعال لا يرتبط بموقع الاستقبال ، أما الطفرة فى موقع الاستقبال فينتج عنها عدم قدرة البروتين المثبط الفعال فى الارتباط بموقع الاستقبال الذى تم تغييره . وفى كلتا الحالتين يتضاعف الحمض النووى د ن أ الفيروسى دون أى سيطرة للخلية عليه ، ويشبه فى ذلك الفيروسات الضارية حيث لا يستطيع اكساب الخلايا القدرة الكامنة على التحلل (الحالة اللايسوجينية) .

بعض الفاجات قابلة للحث Inducible بما فى ذلك فاج لامدا ، والمقصود بقابلة للحث " انه يمكن تحويلها من الحالة الكامنة repressed الى دورة التحلل Lytic cycle وتسمى عملية التحويل هذه بالحث Induction . ويمكن حث الفاج phage induction بواسطة عدد من العوامل المختلفة التى تؤثر على الحمض النووى د ن أ مثل الأشعة فوق البنفسجية UV light . تجويع مؤقت للثيمين Thymine starvation المعاملة بمركبات الالكيل Alkylating agents أو المعاملة بالمضاد الحيوى ميتومايسين سى (mitomycin C) .

المناعة : Immunity

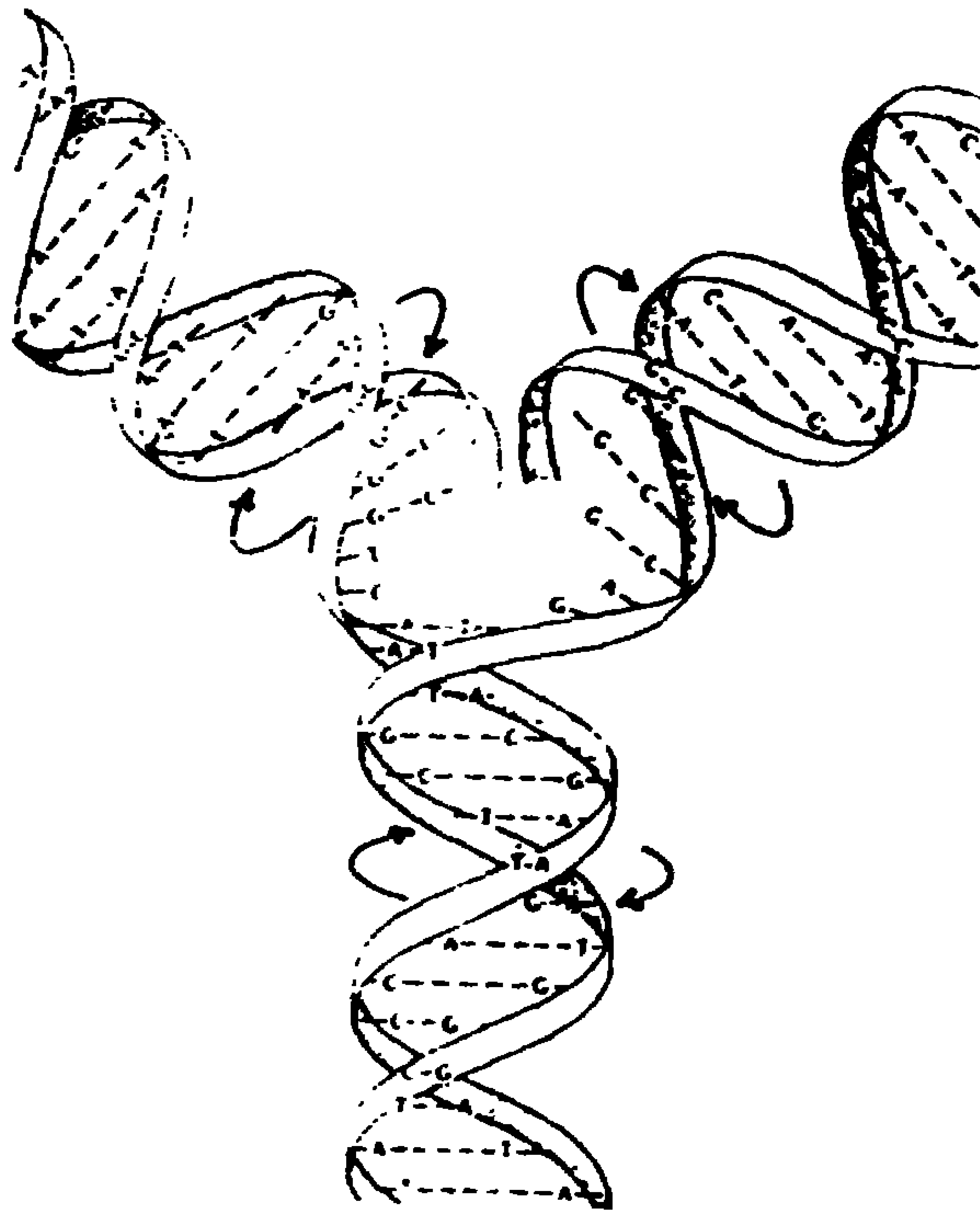
اذا سمح لخلايا ذات قدرة كامنة على التحلل بأن تمتز جسيمات

فاج أخرى مختلفة فان هذه الخلايا يقال عنها انها حدث بها اصابة بعد اصابة (عدوى اضافية) Super infected حيث يتخلل الحمض النووى دنا للفاج الثانى الى داخل الخلية ذات القدرة الكامنه على التحلل . ولكن قدرة هذا الفاج الثانى على الدخول فى دورة التحلل Lytic cycle للبكتيريا تعتمد على مدى حساسيته لجزئيات البروتين المثبط الموجودة فى داخل الخلية والتى انتجها الفاج الأول والذى سكن الخلية مسبقا . فاذا كان الفاج الثانى لا يتأثر بالبروتين المثبط فانه سيدخل فى دورة التحلل ، ويؤدى فى النهاية الى انفجار الخلايا ولكن اذا كان الفاج الثانى حساسا لذلك المثبط، فان الاصابة الثانية سيحدث لها اجهاض Abortion بمعنى أن الحمض النووى دنا الخاص بالفيروس الثانى لن يتضاعف ولن تترجم معلوماته ، بل على العكس من ذلك فانه سيخفف بتقدم نمو الخلايا ، فعند انقسام الخلية الى خليتين، احدى الخليتين الأختيتين تستلم نسخة الفاج التى تم اجهاضها ،والخلية الأختية الثانية لا تستلم نسخ منه ، وباستمرار الانقسام يتم تخفيف الاصابة الثانية، وفى هذه الحالة يقال للخلايا ذات القدرة الكامنه على التحلل أنها منيعة Immune أى اكتسبت مناعة للاصابة بالفاج الثانى .

وعند ما يكون نوعين مختلفين من الفاجات حساسين لنفس المثبط، فانه يقال عن هذين الفاجين أنهما " متعاونين فى المناعة Coimmune " ويجب التفريق بين المناعة Immunity ومقاومة الفاجات Phage resistance. فالأخيرة تنتج عن طفرة فى موقع امتزاز الفاج على سطح الخلية بحيث لا يستطيع الفاج الامتزاز على سطحها وبالتالى لا يمكن حقن حمض النووى داخل الخلية البكتيرية .

الباب السابع

وراثة الأحياء الدقيقة وبيولوجيتها الجزيئية



الفصل الثامن عشر
وراثة الفاجات والبيولوجيا الجزيئية
Phage genetics and molecular biology

ان دراسة الوراثة تم تصعيدها الى المستوى الجزيئى فى عام ١٩٥٣ عندما نشر واتسون وكريك Watson and Crick تصورهما لبناء جزيئات دنأ (شكل ١٤ـ٧) والأهمية الكبيرة لهذا التصور أنه يفسر بوضوح حدوث كلا من تضاعف جزيئات دنأ وكذلك ميكانيكية حدوث الطفرات.

أما تضاعف جزيئات دنأ فهى تتلخص فى انفصال سلسلتى الحمض النووى دنأ ثم يبنى على كل من السلسلتين المنفصلتين سلسلة مكملة لها ، فينتج عن ذلك سلسلتين من الحمض دنأ تشبهان السلسلة الأبوية تماما . وهناك نظريات مختلفة تفسر كيفية حدوث التضاعف. كما أنه قد أصبح من الممكن الآن تعريف المورث Gene والطفرة Mutants تعريفا دقيقا على المستوى الجزيئى :

ـ المورث (حامل الصفات الوراثية) : Gene

نشر بيدل وتاتم Beadle and Tatum عام ١٩٤١ نتائج دراستهما الوراثية على أحد أنواع Neurospora Sp. وهو فطر يمكن احداث الطفرات فيه بمعدل أكبر من المألوف ، وذلك عن طريق التشعيع بالأشعة السينية X-ray irradiation. وقد وجد هذان العالمان أن بعض الطفرات Mutants المتحصل عليها تختلف فى قدراتها الأيضية والتخليقية عن السلالة الأبوية للفطر ، وهذا يعنى أن هذه السلالات تحتوى على أنزيمات مختلفة عن السلالة الأبوية ، وبدراسة العلاقة بين الاختلافات الوراثية والاختلافات فى المحتوى الانزيمى استنتج بيدل وتاتم تحكم المورثات gene فى النشاط الانزيمى حيث

أدخلا تعبير مورث (جين) واحد لانزيم واحد One gene one enzyme للدلالة على أن هناك مورثا واحدا يتحكم فى انزيم واحد · ثم تطورت الدراسات بسرعة حيث أمكن معرفة أن بعض الانزيمات تتكون من أكثر من سلسلة ببتيدية واحدة ، وقد تكون السلاسل الببتيدية المختلفة فى نفس الانزيم ذات ترتيب مختلف للأحماض الأمينية ، فطور تعبير بيدل وتاتم ليكون مورث واحد لسلسلة ببتيدية واحدة ·

وعلى هذا يمكن تعريف المورث (حامل الصفات الوراثية) gene بأنه مقطع من الحمض النووى د ن أ تترتب فيه القواعد النيتروجينية ترتيبا يحدد تسلسل الأحماض الأمينية فى سلسلة ببتيدية واحدة Single Polypeptide chain وذلك بواسطة عمليتى نقل الشفرة transcription وترجمة الشفرة Translation.

لذلك ··· فان تغيير تسلسل القواعد النيتروجينية فى الحمض النووى د ن أ وذلك بحذف قاعدة واحدة أو اضافة قاعدة واحدة أو حتى تغيير قاعدة واحدة قد ينتهى بتغيير تسلسل الأحماض الأمينية فى السلسلة الببتيدية · وبعض هذه التغيرات التى تطرأ على تسلسل الأحماض الأمينية فى السلسلة الببتيدية قد ينتج عنه تغيير فى التركيب الثانوى أو الثالثى أو الرابعى للبروتين مما ينتج عنه فقد كلى أو جزئى فى نشاط البروتين وهو ما يعرف بالطفرة ·

الطفرة mutant هى أى تغيير فى ترتيب القواعد النيتروجينية فى الحمض النووى د ن أ لأى مورث أو مورثات ، سواء كان هذا التغيير ناتج عن استبدال قاعدة نيتروجينية بقاعدة أخرى أو حذف أو اضافة قاعدة واحدة أو أكثر بين القواعد النيتروجينية للحمض النووى ·

ورغم أن السلاسل عديدة الببتيدات المختلفة تختلف كثيرا فى طولها ··· فقد وجد أن معظم السلاسل الببتيدية التى تم قياسها لها وزنا جزيئيا يتراوح بين ٣٠,٠٠٠ و ٤٠,٠٠٠ وهذا يدل على أن هذه السلاسل تحتوى على عدد من الأحماض الأمينية يتراوح بين

٢٥٠ الى ٣٠٠ حمض أميني . فاذا اعتبرنا أن جزيء البروتين به حوالى ٣٠٠ حمض أميني ، وأن كل حمض أميني له شفرة مكونة من ثلاث قواعد نيتروجينية يكون المورث مكون تقريبا من حوالى ١٠٠٠ قاعدة نيتروجينية تقريبا . وحيث أن الحمض النووى د ن أ يكون مزدوج السلسلة فمتوسط طول الجين يكون عبارة عن (١٠٠٠) ألف زوج من القواعد النيتروجينية ، ويختلف عدد المورثات فى الفيروسات المختلفة اختلافا كبيرا (جدول ١٨ــ١) ، كما أن كلمة مورث gene تستخدم أيضا لوصف مقاطع من د ن أ لا تترجم الى بروتينات ، ولكنها تستخدم لانتاج جزيئات ت ر ن أ أو ر ر ن أ السابق الاشارة اليهما . وتستخدم أيضا للتعبير عن مقاطع من د ن أ لا ينتج عنها ر ن أ على الاطلاق ، ومثل تلك المقاطع موقع الاستقبال فى فاج لامدا (λ) والذي يرتبط به البروتين المثبط ، وعند ارتباط البروتين المثبط بمورث موقع الاستقبال ، فان فاج لامدا يتحول الى الحالة الكامنة repressed .

الخلط الوراثى فى الفيروسات

Genetic Recombination in Viruses

يمكن تعريف الخلط الوراثى من الوجهة الجزيئية على أنه العملية التى ينتج عنها تكوين كروموسوم بنوى Progany ناتج من الحمض النووى الأبوى Parental لفيروسين مختلفين .

فاذا تم غزو خلية بكتيرية فى نفس الوقت بفيروسين أبويين متقاربين ، ولكن يختلفان فى عدد من العلامات الوراثية Genetic markers (مورثات) فان الفيروسات البنوية الناتجة عند انفجار الخلية لا تشمل فيروسات من نوع الأبوين فقط بل أيضا يوجد عدد من الفيروسات تحتوي على كروموسوم ناتج عن اختلاط (مورثات) علامات وراثية من كلا من الأبوين Genetic recombinants.

جدول ١٨ـ١ : عدد المورثات Genes المقدرة على الحمض النووى لبعض الفاجات بالمقارنة بالفيروسات النباتية والحيوانية ٠

الفيروس أو الفـــــــاج		عدد المورثات المقدرة
فيروس تنخر الدخان الدقيق	Tobacco necrosis satallite	١
فيروس تبرقش البروم	Brome mosaic	٣
فاج بكتيريا القولون اف١	Caliphage *f1*	٣
فاج بكتيريا القولون فاى ـ اكس ١٧٤	Coliphage ØX174	٧
فيروس البوليوما	Polyoma virus	٧
فيروس اكس البطاطس	Potato virus X	٧
فيروس تبرقش الدخان	Tobacco mosaic virus	٧
فيروس تنخر الدخان	Tobacco necrosis virus	٧
فيروس التبرقش الاصفر فى الدخان	Turnip yellow mosaic	٧
فيروس الورم الحلمى	Shope papilloma	٨
فيروس سيميان ٤٠	Simian virus 40	٨
فيروس الانفلونزا	Influenza	١٠
فيروس شلل الأطفال	Polio virus	١٠
فيروس ريو	Reovirus	١٧
الفيروس السيتوبلازمى	Cytoplasmic polyhedrosis	٢٢
فيروس التورم العضلى الخبيث	Rous sarcoma	٢٣
فيروس أدينو	Adenovirus	٢٨
فاج سالمونيللا ـ بى ٢٢	Salmonella P 22	٤٧
فاج بكتيريا القولون لامدا	Coliphage lambda	٥٣
فيروس القوباء (الهربس)	Herpes simplex	١٢٨
فاج تى ٤	Coliphage T4	٢٠٠
فيروس التيبولا القزحى	Tipula iridescent	٢٦٠
فيروسات فاكسينيا (جدرى البقر)	Vaccinia	٢٦٧

كان هيرشي وروتمان Hershey & Rotman عام ١٩٤٩ أول من درس تكوين الخلطات الوراثية في الفاج حيث استعملا طفرتين مختلفتين من فاج تى ٢ T_2 لغزو بكتيريا القولون (E. coli B/2). والطفرتين الفيروسيتين لفاج تى ٢ اللذان استعملهما هيرشي هما :

الطفرة (r^-) وهى طفرة تؤدى الى سرعة تحلل الخلايا rapid lysis.
والطفرة (h^-) وهى طفرة ذات مدى عوائلى واسع، أى تهاجم عائلا آخر من البكتيريا . وهى البكتيريا ب /٢ (B/2) علاوة على اصابتها لسلالة البكتيريا (B) . أما السلالة البرية للفاج تى ٢ (T_2) فهى تصيب سلالة البكتيريا ب (B) فقط ولا تصيب ب /٢ (B/2) .

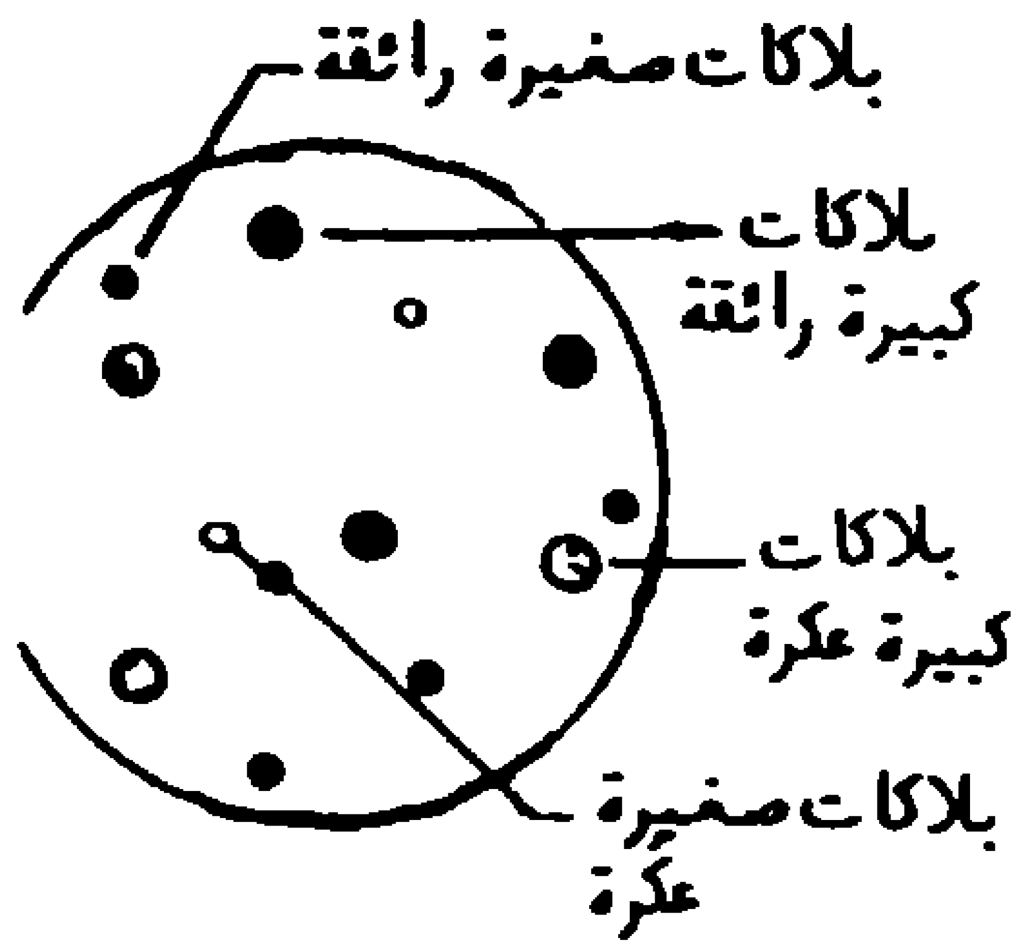
وقد رمز الى السلالة البرية لفاج تى ٢ بالرمز $T_2\ r^+h^+$ أما الطفرة التى تؤدى الى سرعة التحلل فيطلق عليها T_2r^- وأما طفرة اتساع المدى العوائلى فيطلق عليها T_2h^- أما الطفرة المزدوجة فهى $T_2r^-h^-$.

وقد تمكن هيرشي من الحصول على الطفرة المزدوجة $T_2r^-h^-$ عندما حقن الطفرة T_2r^- على بكتيريا من السلالة ب/٢ (B/2) — فالبلاكات التى تظهر عليها لابد وأن تكون طفرة مزدوجة $T_2r^-h^-$.

وعندما قام هيرشي بحقن الطفره المزدوجة $T_2r^-h^-$ والسلالة البرية $T_2r^+h^+$ معا فى نفس الوقت على سلالة البكتيريا ب (B) تحصل من كل خلية مصابة على السلالات الفيروسية الأربع التالية :

١ـ السلالة البرية $T_2r^+h^+$ (أحد الأبوين) parental type.
٢ـ الطفرة المزدوجة $T_2r^-h^-$ (الأب الآخر) parental type.
٣ـ الطفرة سريعة التحلل $T_2r^-h^+$ (خلطة وراثية جديدة) Genetic recominant.
٤ـ الطفرة المدى العوائلى الواسع $T_2r^+h^-$ (خلطة وراثية جديدة) genetic recombinant.

وعند حقن خليط من السلالات الأربع المذكورة على دليل مختلط من البكتيريا ب (B) ، ب/٢ (B/2) يمكن تمييز وجود الأربعة سلالات كما هي موضحة في الشكل (١٨ـ١) .



شكل ١٨ـ١ : الشكل المميز للسلالات الأربع من فاج تي ٢ السلالة البرية ($T_2r^+h^+$) بلاكات صغيرة عكرة نتيجة عدم قدرتها على مهاجمة خلايا البكتيريا B/2 السلالة الأبوية الثانية $T_2r^-h^-$ بلاكات كبيرة رائقة تماما نسرعة تحليل الخلايا من السلالتين B/2, B طفرة المدى العوائلي الواسع $T_2r^+h^-$ بلاكات صغيرة رائقة تماما نتيجة قدرة الفيروسات على مهاجمة البكتيريا من السلالتين ولكن ليس بسرعة طفرة التحليل السريع للخلايا $T_2r^-h^+$ بلاكات كبيرة عكرة نتيجة قدرة الفيروسات على التحلل السريع لسلالة (B) فقط .

احداث الطفرات : Mutagensis

والمعروف أن الطفرات تحدث تلقائيا Spontaneous وبدون توجيه undirected وان كان حدوثها التلقائي يعتبر ظاهرة نادرة وقليلة الحدوث ، الا أن هناك بعض العوامل والمواد التي يمكنها زيادة معدل التطفر زيادة كبيرة . ومثل هذه العوامل والمواد تسمى عوامل تطفرية أو مطفرات mutagenic agents or mutagent أو مواد تطفرية ، ومن أمثلتها الاشعاعات الثابته مثل الأشعة فوق البنفسجية UV light والأشعة السينية X-ray وشبيهات القواعد النيتروجينية base analoques وحمض النيتروز nitrous acid وصبغات الاكريدين Acridines والمواد التي تضيف مجموعة الالكيل لقواعد البيورين والبريميدين Alkylating agents وأحيانا تسمى المواد التي تزيد من معدل حدوث الطفرات باسم

. Carcenogenic agents

وقد سبق الاشارة الى أن الطفرات تحدث تلقائيا spontaneous في الطبيعة بمعدل منخفض جدا وان كانت نسبتها تتأثر كثيرا بالظروف البيئية ، ومن المعقول أن نفترض أن منشأ الأجناس المختلفة في سائر الفيروسات ، وكذلك الأنواع والسلالات يرجع الى حدوث الطفرات التلقائية المستمرة . كما أن المزيد من السلالات المختلفة لازالت في طريقها الى الظهور عن هذا الطريق أيضا . وليس من الضروري أن يسفر التطفر عن ظهور سلالات فيروسية تكون أقدر على التأقلم من السلالات الأصلية التى نشأت منها بل انه قد يحدث العكس ، بمعنى أن الطفرة الناتجة قد تكون أضعف وأقل ضراوة من السلالة الأم .

عند تعريف الطفرات ذكرنا انها غير موجهة undirected وهذا يعنى أنها تحدث مستقلة تماما عن ظروف البيئة التى توافق نموها وتأقلمها .

من ذلك ... نرى أن الطفرات التى تنشأ في الفيروسات وتكون مقاومة لأجسام مضادة Antibodies معينة أو مقاومة لمركبات كيميائية معينة تحدث في مجاميع الفيروسات حتى في غياب مثل هذه الأجسام المضادة أو في غياب هذه المركبات الكيميائية .

ولكن لانتخاب أو عزل مثل هذه الطفرات يجب تعريض هذه المجاميع الفيروسية لتأثير المركبات الكيميائية المطلوب عزل طفرات مقاومة لتأثيرها ، وتحت هذا الظروف فان الفيروسات الحساسة لهذه المركبات الكيميائية تفشل في النمو في وجود هذه المركبات الكيميائية ، في حين أن الطفرة هي التى تستطيع مقاومة هذه الظروف وتستطيع مضاعفة نفسها ، ومثل هذه الطرق تسمى الطرق الانتخابية Selective ولها أهمية كبيرة في اظهار الطفرات التلقائية التى تنتج طبيعيا .

التطفر Mutation

هو أى تغيير دائم فى ترتيب القواعد النيتروجينية فى جزئ د ن أ سواء أدى هذا التغيير الى تغيير ملحوظ فى الخواص الظاهرية للفيروس أم لا .

الأساس الكيميائى للتطفر :

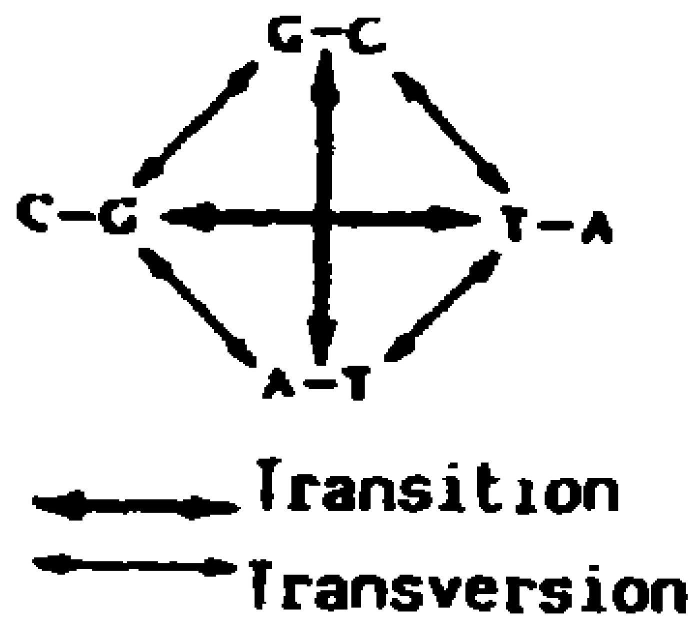
ان ترتيب القواعد النيتروجينية (البيورين والبريميدين) فى أى مورث يمكن تغييره بأى من الطرق التالية :

أ- استبدال زوج من القواعد Base-pair substitution والمطفرات التى تحدثه :

قد يستبدل زوج من القواعد النيتروجينية فى سلسلة الحمض النووى بزوج آخر مثل تحويل أزواج الجوانين - سيتوزين الى آدنين - ثيمين أو العكس ، وبذلك فان الشفرة تتغير ، ويتغير الحمض الأمينى الذى يتم ادخاله فى السلسلة عديدة الببتيدات عند هذا الموقع ، وينتج بروتين مختلف عن البروتين الأصلى ، وأحيانا يسمى هذا النوع من الطفرات باسم طفرة النقطة Point mutation وتقسم طفرات النقطة الى نوعين كما يلى :

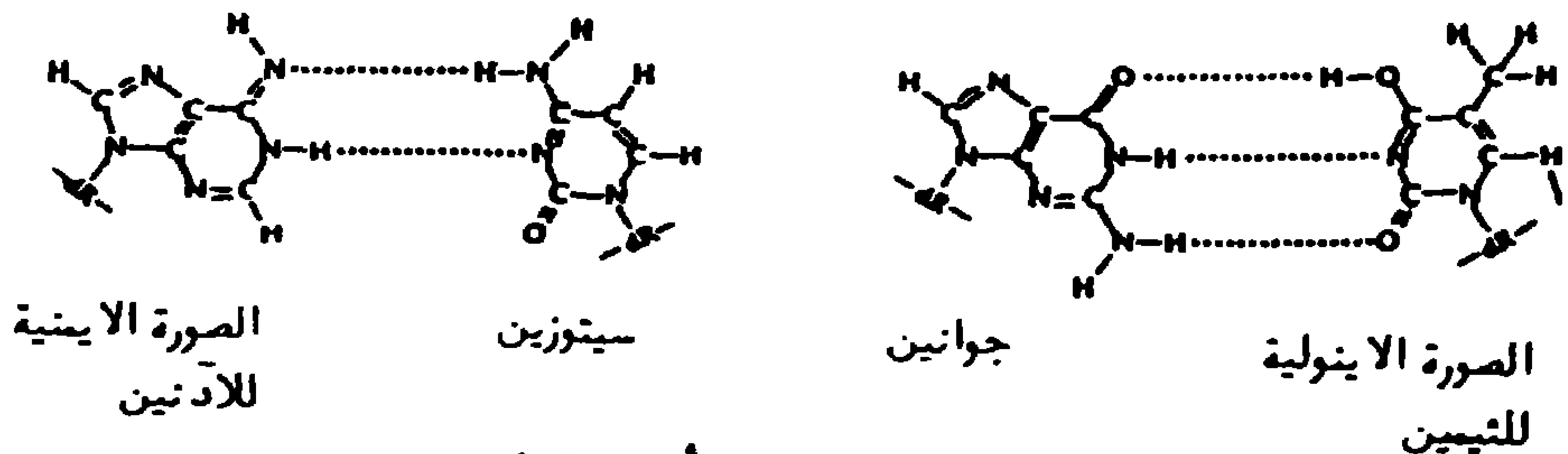
(١) استبدال زوج من القواعد النيتروجينية بزوج قواعد مماثل Transitions

وفى هذا النوع من الطفرات تستبدل قاعدة بيورين مثل الجوانين أو الأدنين بقاعدة البيورين الأخرى فى نفس الموقع ، ويقابلها فى السلسلة الأخرى استبدال قاعدة البريميدين مثل الثيمين أو السيتوزين بقاعدة البريميدين الأخرى (شكل ١٨-٢) .



شكل ١٨ـ٢ : استبدال أزواج القواعد النيتروجينية عند استبدال بيورين ببيورين آخر أو بريميدين ببريميدين يسمى الاستبدال Transition وعند استبدال بيورين ببريميدين أو العكس يسمى الاستبدال Transversion.

وقد أشار واتسون وكريك Watson and Crick عام ١٩٥٣ فى بحثهما الأصلى الشهير الى أن هذا النوع من الطفرات قد يحدث نتيجة لانتقال زوج من الالكترونات Tautomeric Shift of electrons لتحويل قاعدة بريميدين مثل الثيمين من الصورة الكيتونية Ketoform الى الصورة الاينولية Enol form (شكل ١٨ـ٣) فيرتبط بذلك مع الجوانين بدلا من الأدنين عند تضاعف الحمض النووى د ن أ كما قد يحدث انتقال زوج الالكترونات فى قاعدة بيورين أيضا مثل الأدنين فيحولها بذلك من الصورة الأمينية Amino form الى الصورة الايمنية Imino form (شكل ١٨ـ٣) ٠ فترتبط بذلك عند تضاعف الحمض النووى د ن أ مع السيتوزين بدلا من الثيمين ٠ كما أن انتقال أزواج الالكترونات قد يحدث فى القواعد الأخرى مثل الجوانين والسيتوزين مؤديا أيضا لحدوث طفرات النقطة المسماه transitions.



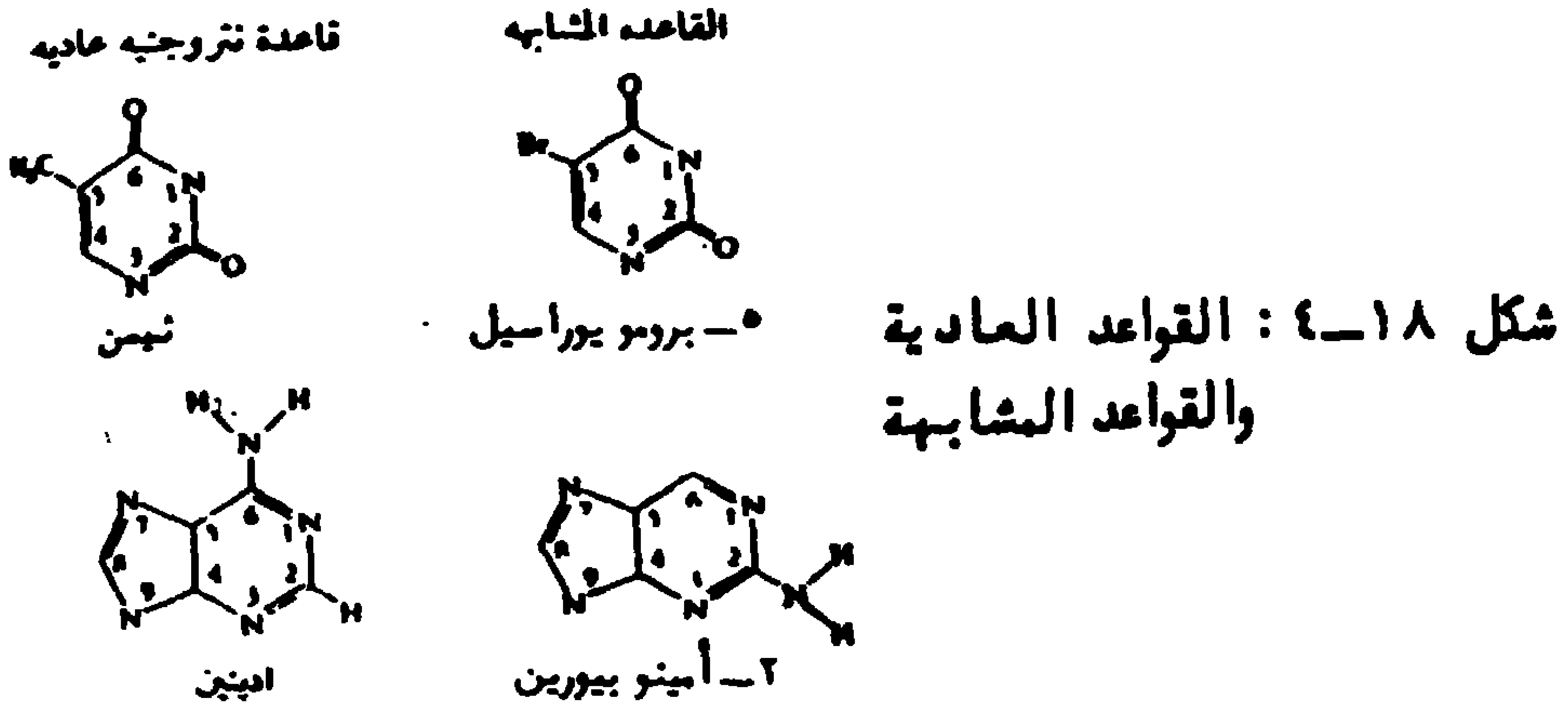
شكل ١٨ـ٣ : التغيرات فى أزواج القواعد نتيجة لانتقال أزواج الالكترونات حيث تتحول الصورة الكيتونية الى الصورة الاينولية فتختلف القاعدة المكملة لزوج القواعد أو تتحول الصورة الأمينية الى الصورة الايمنية فتختلف القاعدة المكملة لزوج القواعد ٠

(٢) استبدال زوج من القواعد النيتروجينية بزوج مخالف:

Transversions

وفي هذا النوع من الطفرات تستبدل قاعدة بيورين في احدى السلسلتين بقاعدة بريميدين في نفس الموقع ويقابلها في السلسلة الأخرى استبدال قاعدة بريميدين بقاعدة بيورين (شكل ١٨ـ٢) وتحدث هذه الاستبدالات أيضا نتيجة لانتقال أزواج الالكترونات في أى قاعدة نيتروجينية ـ كما سبق الذكر .

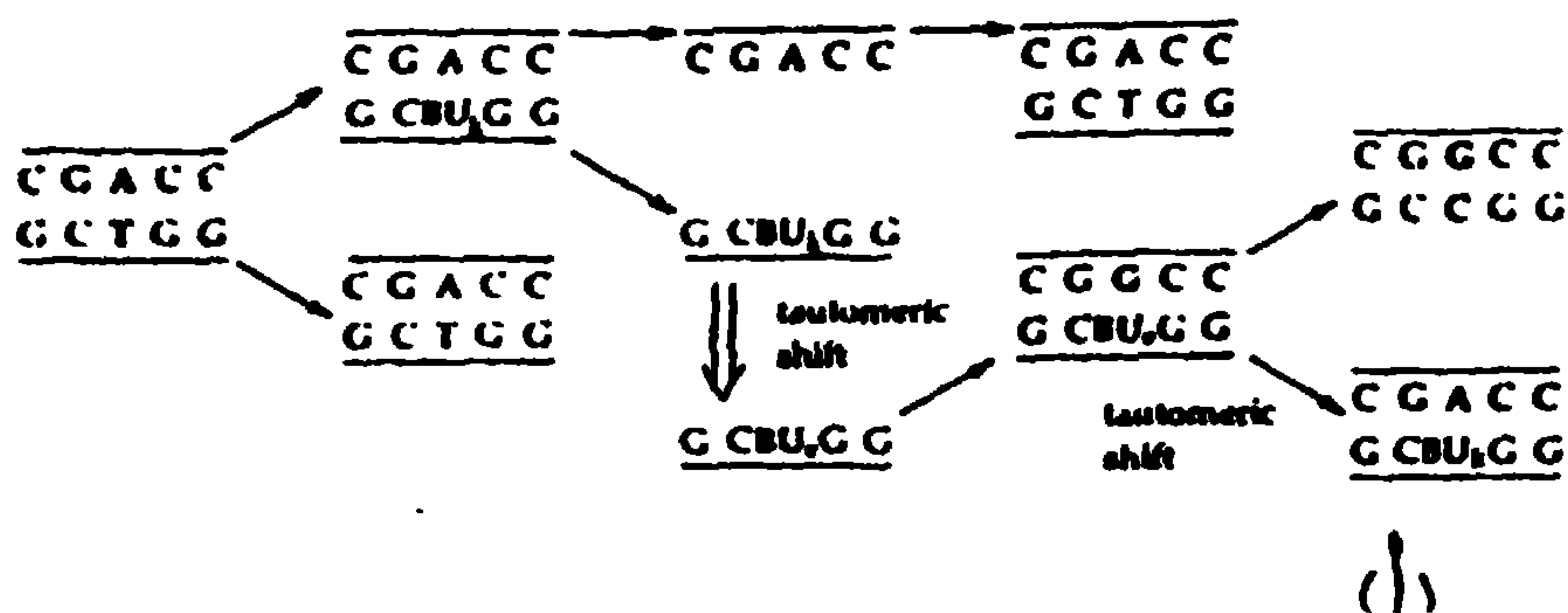
وتحدث طفرات النقطة في الفيروسات طبيعيا بنسبة قليلة ، ولكن يمكن زيادة نسبة حدوثها باستعمال شبيهات القواعد Base analogues مثل مركب ٥ ـ بروموبوراسيل 5-Bromo uracil أو ٢ـ أمينوبيورين Amino purine (شكل ١٨ـ٤) وهي مركبات معروفة بحدوث انتقال أزواج الالكترونات Tautomeric shifts بصورة أكثر مما في القواعد النيتروجينية العادية في الأحماض النووية (الجوانين ـ الأدنين ـ الثيمين ـ السيتوزين) . وعند اضافة أيا من المركبين ٥



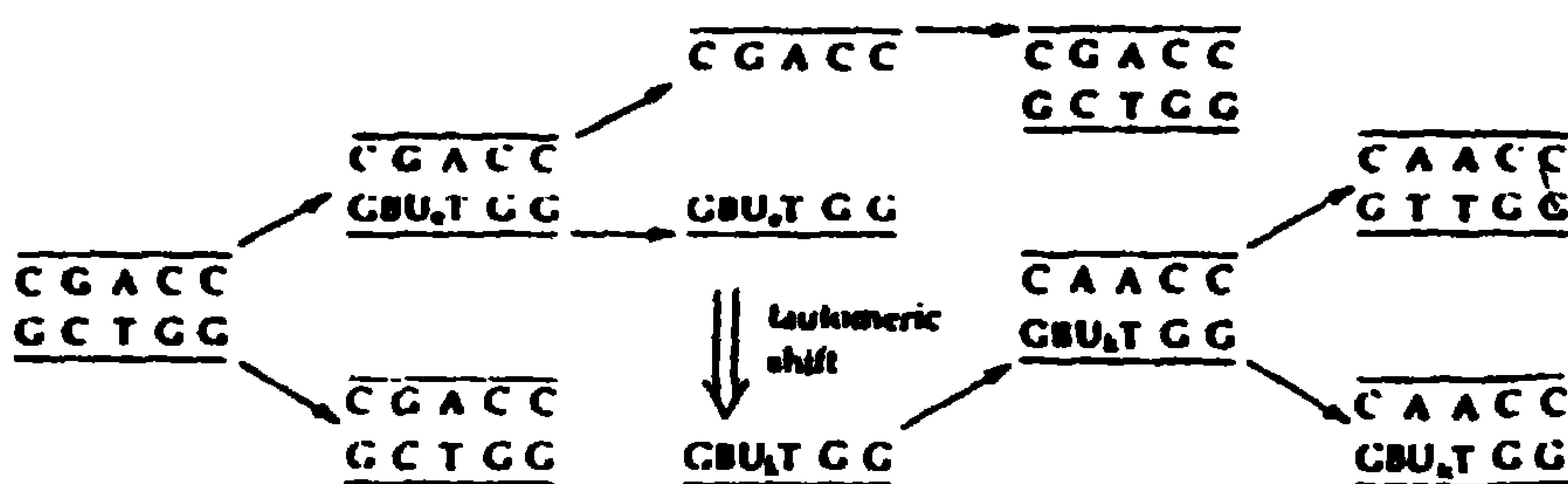
شكل ١٨ـ٤ : القواعد العادية والقواعد المشابهة

ـ بروموبوراسيل أو ٢ ـ أمينوبيورين في البيئة ، فانه يتم ادخالهما في الحمض النووى دنأ حديث التكوين حيث يدخل ٥ ـ بروموبوراسيل محل قاعدة الثيمين ، أما مركب ٢ـ أمينو بيورين فيدخل محل قاعدة الأدنين ، وشبيهات القواعد المذكورة تتحول من صورة الى أخرى بكثرة وينتج

عن ذلك طفرات النقطة من نوع استبدال القواعد بقواعد مماثلة transions وبقواعد مخالفة transversions (شكل ١٨ـ٥) .



(أ)



(ب)

شكل ١٨ـ٥ :

أ ـ عندما يدخل البروموبوراسيل (الصورة الكيتونية) فان انتقال زوج من الالكترونات أثناء تضاعف الحمض النووي د ن أ يسبب تغير زوج القواعد من AT الى GC .

ب ـ وعندما يدخل البروموبوراسيل (الصورة الاينولية) فان انتقال زوج الالكترونات أثناء تضاعف الحمض النووي د ن أ ـ يسبب تغيير زوج القواعد من GC الى AT .

ويطلق على الموقع الدقيق للطفرة اصطلاح (الأليل) Allele وقد يحدث استبدال للقواعد في عديد من المواقع Many alleles في نفس المورث gene . بعض هذه المواقع قد يكون أساسيا لنشاط البروتين الناتج عن المورث المذكور ، فيمكن كشف هذه الطفرة بانخفاض كبير في نشاط البروتين المذكور أو غياب النشاط كليا . وتتميز معظم طفرات النقطة

بأنها (تسمح بالتسرب) Leaky mutants بمعنى أنها لا تؤدى الى اختفاء نشاط المورث اختفاء كليا . وقد تكون الطفرة فى موقع غير أساسى لنشاط البروتين ، وبذلك لا يمكن كشف هذه الطفرة بالطرق العادية ، كما قد تتكون طفرات قاتلة Lethal mutations وهذه أيضا لا يمكن كشفها الا اذا أمكن تنمية الكائن فى ظروف لا تسمح باظهار الطفرة Conditionally expressed lethal mutations.

(٢) المطفرات التى تحدث طفرات النقطة (استبدال زوج قواعد)

ويطلق على المواد التى تستخدم لزيادة نسبة الطفرات باسم المواد المطفرة mutagenic agents أو المطفرات mutagens.

ومن المواد المطفرة القادرة على احداث تغيير زوج من القواعد النيتروجينية بزوج قواعد مماثل transitions هى حمض النيتروز Nitrous acid والهيدوكسيل آمين Hydroxyl amine ويقوم حمض النيتروز بنزع مجموعات الآمين من القواعد النيتروجينية فى الحمض النووى دنأ واستبدالها بمجموعات هيدروكسيل . فاذا حدث مثل هذا الاستبدال فى قاعدة الادنين مثلا فيتكون منه مركب هيبوزانثين Hypoxanthine والذى يرتبط عند التضاعف مع السيتوزين بدلا من الثيمين (شكل ١٨-٦) فتتحول أزواج AT الى أزواج GC كما تتحول أزواج GC الى أزواج AT .

أما مركب الهيدوكسيل آمين فهو يتفاعل عادة مع السيتوزين فقط بنزع مجموعة الأمين واستبدالها بمجموعة هيدروكسيل آمين مكونا مشتقات الهيدوكسيل أمين للسيتوزين وهذا الأخير تحدث فيه انتقال أزواج الالكترونات بكثرة ، وينتج عن ذلك تغير أزواج GC الى AT .

ومن المواد المطفرة القادرة على احداث نوعى طفرات النقطة (استبدال القواعد النيتروجينية بقواعد مماثلة أو مخالفة) هى المطفرات التى تدخل مجموعة الالكيل Alkylating agents مثل غاز المستردة

ثيمين أدنين أ
نزع الأمين HNO_2
ثيمين هيبوكسي زانثين (صورة اينولية) ب
ثيمين هيبوكسي زانثين (صورة كيتونية) جـ
سيتوزين هيبوكسي زانثين (صورة كيتونية) د
سيتوزين هيبوكسي زانثين (صورة كيتونية) هـ
سيتوزين جوانين و

شكل ١٨ـ٦ : مثال للطفرات الناتجة عن المعامل بحمض النيتروز

أ ـ زوج AT في حمض د ن أ

ب ـ نزع مجموعة الأمين من الأدنين وتحويله الى هيبوزانثين (HX)

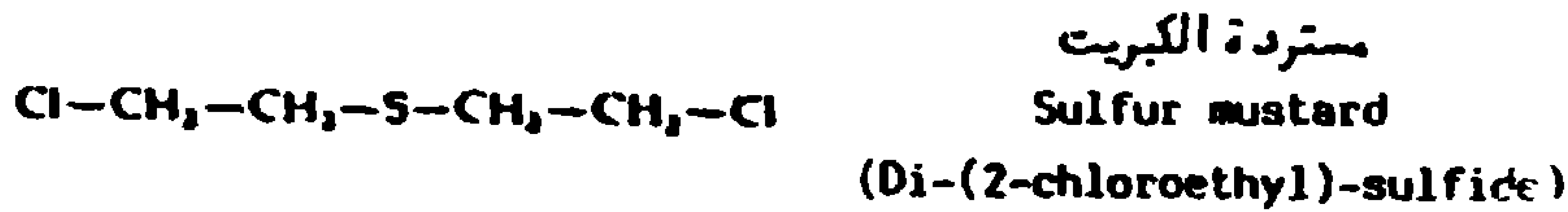
جـ ـ عند انفصال سلسلتي الحمض النووي يؤدي انتقال زوج الالكترونات الى تحول الصورة الكيتونية الى الصورة الاينولية .

د ـ عند التضاعف يتكون زوج هيبوكسانثين ـ سيتوزين .

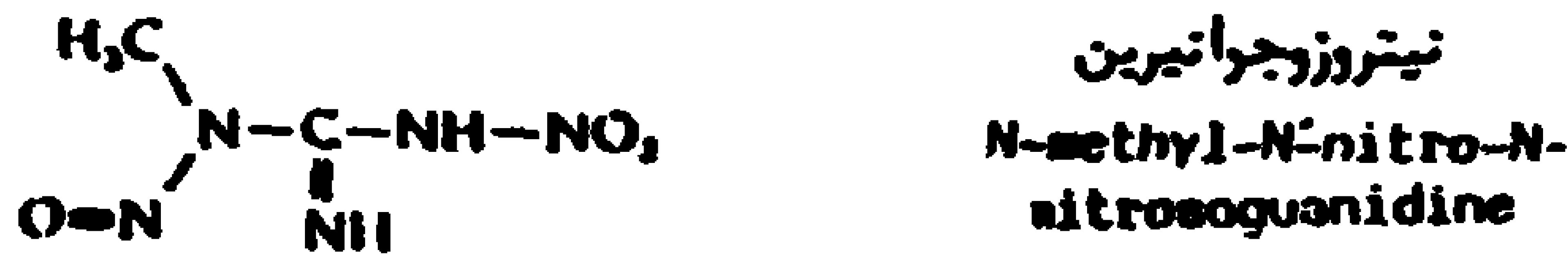
هـ ، و ـ الدورة التالية من التضاعف حيث يظهر GC بدلا من AT

والايثيل ميثان سلفونات Mustard gas (EMS) Ethylmethan sulf- onate والنيتروزوجواندين Nitrosoguanidine واسمه العلمى N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine شكل (١٨_٧)

وهذه المطفرات تنقل مجموعة الكيل Alkyl الى ذرة النيتروجين رقم ٧ على قاعدة الجوانين وغيره من القواعد النيتروجينية . كما أن ادخال مجموعات الالكيل Alkylation على ذرات أخرى فى القواعد النيتروجينية يمنع تكوين أزواج القواعد Base pairing . ويؤدي الى نزع مجموعات البيورين من سكر الدى أوكسريبوز على السلسلة الهيكلية للحمض النووى د ن أ . وتؤدى كل هذه التغييرات الى حدوث استبدال ازواج القواعد بقواعد مماثلة أو مخالفة . لذلك تعتبر هذه المطفرات من أقوى المطفرات المعروفة ، ويستخدم النيتروز وجوانيدين بكثرة لاحداث الطفرات فى الفيروسات وغيرها من الأحياء الدقيقة .







شكل ١٨_٧ : التركيب البنائى لبعض المواد المطفرة التى تدخل مجموعة الالكيل .

وكثيرا ما ترتد طفرات النقطة Point mutations الى سلالاتها البرية Wild type . وارتداد أى طفرة Mutant الى سلالتها البرية يطلق عليها الارتداد Reversion . ونسبة الارتداد فى

طفرات النقطة عالية (الشكل ١٨ ـ ٣) نتيجة لعودة انتقـــــال زوج الالكترونات الى مكانها الطبيعى ٠

ب ـ تحريف موقع الشفرة Frame shift mutation والمطفـرات التى تحدثها :

وقد سميت تلك الطريقة بهذه التسمية نظرا لأنه يحدث ادخـــال insertion أو ازالة Deletion لزوج واحد من القواعد أو عـــدة أزواج قليلة من القواعد النيتروجينية مما ينتج عنه تحريف لموقع الشفـــرة العادية بعد مكان الطفرة ، فيتغير تسلسل الأحماض الأمينية الناتجـــة عن مثل هذا التسلسل الجديد فى القواعد النيتروجينية (شكل ١٨ ـ ٨) من المطفرات التى تنتج هذا النوع من الطفرات صبغات الاكريديـــن Acridine وأهمها وأكثرها دراسة هى صبغـــة البروفلافيـــن Proflavin ٠ وهذه الصبغة تنتج طفـرات تتميز بالارتـــــداد بطريقـة عشوائية ٠ ويمكن زيادة نسبـة الارتداد بسهولـــة بالمعاملـــة ثانيـــة بصبغـــات الاكريديـــن ، ولكـن هذه الطفـرات لا ترتـــــد

AUGUUUACGGGUAACCAUGAGGAG

ادخال A



AUGUUUAACGGGUAACCAUGAGGA

شكل ١٨ ـ ٨ : قطعة من م ـ رنأ وتقرأ الرسالة بواسطة الريبوسومات فـــــى مجموعات كل مجموعة مكونه من ثـــــلاث قواعد نيتروجينية Codon triplet من اليسار الى اليمين ، وعند ادخال قاعدة أدنين (A) عند الموقع السابع مـــن اليسار فان ذلك ينتج عنه تحريف جميع المجموعات Triplets التى تأتى بعـــد ذلك ٠ وقد وضحت المجموعات التـــى تغيرت بخطوط مزدوجة تحتها ٠

أبدا باستعمال شبيهات القواعد Base analogue أو حمض النيتروز أو الهيدروكسيل أمين (وهى المطفرات التى تنتج طفرات النقطة السابقة الذكر) ... وتتميز طفرات الاكريدين بأنها (لا تسمح بالتسرب) not leaky بمعنى أن المورث الذى تحدث فيه طفرة الاكريدين يختفى نشاطه تماما .

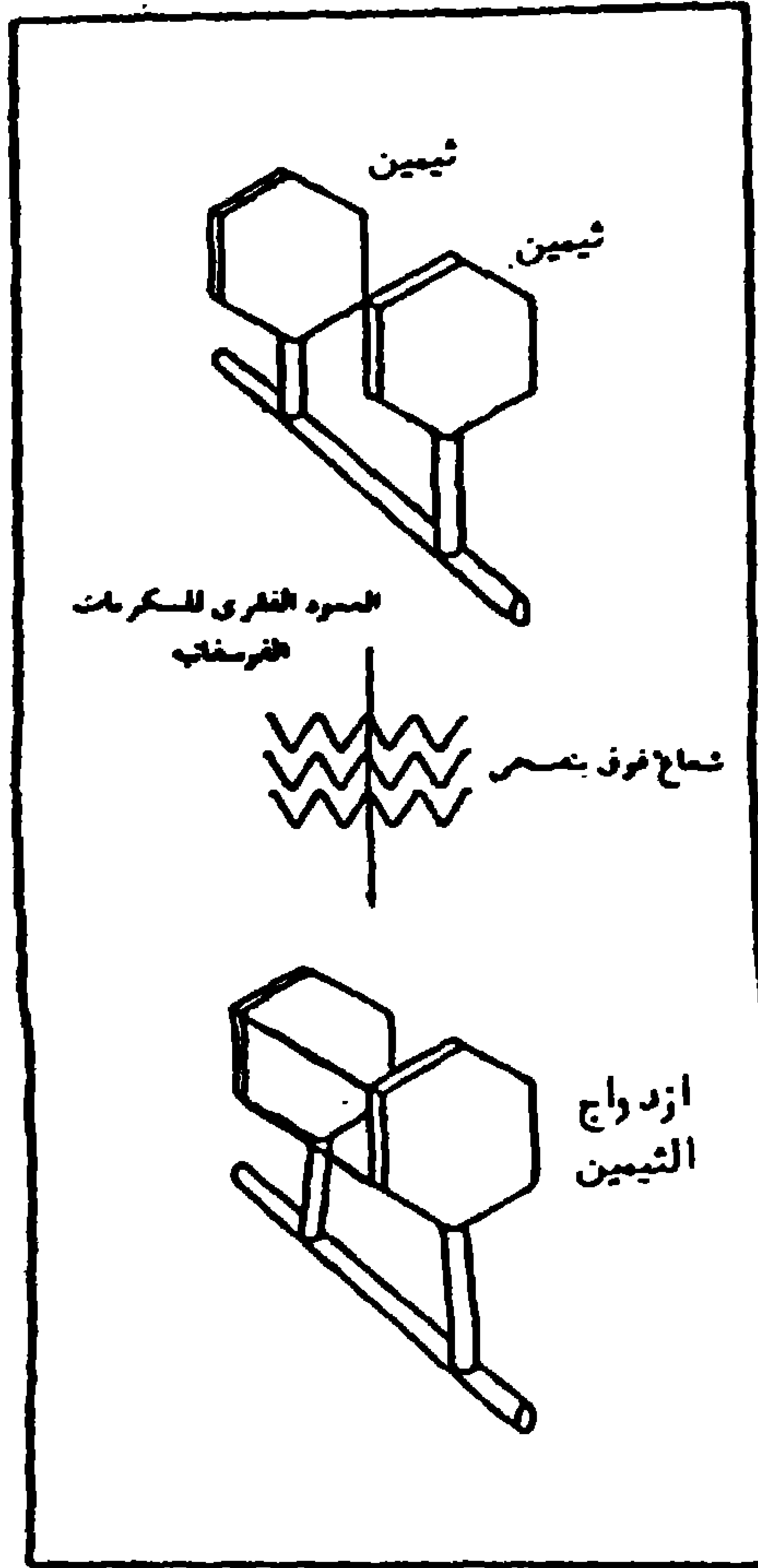
ومن الواضح هنا أن الطفرة الناتجة عن ادخال insertion زوج واحد فى موقع معين من الحمض النووى د ن أ ترتد اذا حذف هذا الزوج من القواعد بحيث يعود التسلسل الى حالته الطبيعية الأصلية ، كما أن ازالة زوج من القواعد فى مكان قريب من الطفرة كثيرا ما يؤدى الى ارتداد الطفرة الى حالتها الطبيعية . خاصة اذا كان عدد الأحماض الأمينية صغيرا أو فى موقع غير أساسى بالنسبة للبروتين الناتج عن المورث الذى حدثت به الطفرتان .

وترجع قدرة الاكريدين على احداث هذا النوع من الطفرات (ادخال قواعد أو حذف قواعد من الحمض النووى د ن أ) الى قدرته فى الدخول بين القواعد بنفسه أثناء عمليات خلط د ن أ DNA recombination

وعند معاملة مزرعة بكتيرية مصابة بفاج خاص يلاحظ حدوث الطفرات المذكورة فى الفاج بينما لا تحدث هذه الطفرات فى مزرعة البكتيريا ، وقد فسرت هذه النتائج على أساس حدوث طفرات الادخال والحذف أثناء عمليات خلط د ن أ DNA recombination والشائعة الحدوث فى الفاجات أثناء تضاعفها والقليلة الحدوث فى مزارع البكتيريا الغير متزاوجة كما أن الأشعة فوق البنفسجية تنشط خلال سلسلة من التفاعلات طفرات ازالة وادخال قواعد جديدة الى جزيئات الحمض النووى د ن أ ، فالمعروف أن الحمض النووى د ن أ يمتص الأشعة فوق البنفسجية بشدة عند طول موجى مقداره ٢٦٠ نانوميتر . وعند تعريض محلول الحمض النووى د ن أ للأشعة فوق البنفسجية يحدث نوعين من التغيرات الكيميائية ... وهما :

(١) تتكون روابط اشتراكية بين قواعد البريميدين المتجاورة

فى نفس السلسلة لتكوين ما يعرف باسم ازدواجات البريميد ين Pyrimidine dimers مثل ازدواج الثيمين (شكل ١٨_٩) ٠



شكل ١٨_٩ : تكوين ازدواج البريميد ين (الثايميـــن) نتيجة للمعاملة بالأشعة فوق البنفسجية ٠

ويؤدى تكوين هذه الازدواجات الى عدم انتظام شكل جزيـــــىء الحمض النووى د ن أ ويؤثر على الروابط الموجودة بين القواعد الطبيعيـــة بين السلسلتين ٠

(٢) يحدث تمية hydration للرابطة الزوجية بين ذرتـــى الكربون ٤ ، ٥ فى بقايا قواعد البريميدين فى جزيء الحمض النووى د ن أ ٠

ويرجع التأثير المطفر للأشعة فوق البنفسجية بدرجة كبيرة لقدرتها على تكوين أزواج البريميدين ، واذا كانت جرعات الأشعة فـــوق البنفسجية كافية ، فانها تؤدى الى تثبيط الفيروسات٠ كما تستخـــدم الأشعة فوق البنفسجية لتعقيم المختبرات والمستشفيات ، فتقتـــل الفيروسات وغيرها من الأحياء الدقيقة ٠ وتتميز البكتيريا بوجود نظاميـن مختلفين لاصلاح العطب الذى يحدث فى البكتيريا نتيجة تعريضهـــا للأشعة فوق البنفسجية ، وهذين النظامين أحداهما يتم فى الظـــلام dark reactivation أما الثانى فلا يتم الا فى الضوء ، ويسمـــى light reactivation.

جـ ـ ازالة جزء كبير Large deletions من المادة الوراثية :

ان ازالة عدد كبير من أزواج القواعد النيتروجينية (البيوريـــن والبريميدين) ينتج عنه طفرات من نوع غير رجعى ٠ بمعنى أن مثـــل هذه الطفرات لا ترتد الى أصلها (السلالة البرية Wild type) ٠٠ ويختلف طول القطع التى تزال من الحمض النووى د ن أ اختلافا كبيـــرا ، فهى تتراوح من جزء فى مورث معين الى عدة مورثات متصلة ٠ وعلـــى سبيل المثال فان عزل بعض سلالات من بكتيريا القولون المعروفـــة E. coli B ذات المقاومة لفاج تى ١ T_1 يتطلب وجود التربتوفـــان Tryptophan فى البيئة ٠ بمعنى أن السلالات المقاومة للفاج (فقـــدت القدرة على امتزاز الفاج تى ١ نتيجة ازالة المورث المسئول عن موقـــع استقبال الفاج على سطح الخلية) تفقد أيضا القدرة على بناء التربتوفان ٠ وبذلك فان الخلية تكون فقدت عددا من المورثات المتصلة ٠

وليس هناك نوع من المطفرات يستطيع القيام بازالة مثل هـــذه الأجزاء الكبيرة ولكن هذه الطفرات تحدث فى الطبيعة تلقائيا spontan-eous.

المطفرات فى الطور الخارجى والطور الداخلى للفاج :

أ- الطور الخارجى (الفيريونات) للفاج :

ان الحمض النووى للفيريونات الكاملة ثابت جدا ، ولا تحدث به طفرات تلقائية spontaneous mutations يمكن تقديرها حتى وان حفظ لفترات زمنية طويلة ٠

ويمكن استعمال بعض المطفرات (المواد التى تتفاعل مباشرة مع الحمض النووى د ن أ) لاحداث طفرات فى الطور الخارجى للفيروسات (الفيريونات) ٠ ومن أمثلة هذه المطفرات حمض النيتروز ومواد ادخال مجموعة الالكيل Alkylating agents والأشعة فوق البنفسجية وغيرها ، وقد سبق ذكر تأثير هذه المواد على الحمض النووى د ن أ ٠ وعند تعريض فيريونات كاملة لأحد هذه المطفرات ، فان التغيير الذى يحدث فى الحمض النووى لا يظهر الا عندما يبدأ الحمض النووى فى التضاعف عندما تغزو الفيريونات المعاملة بالمواد المطفرة خلايا عائل Host cells.

ب- الطور الداخلى للفاج :

المادة الوراثية genome للطور الداخلى للفيروسات (سواء أكان هذا الطور الداخلى عبارة عن فاج أولى Prophage أو فاج فى مرحلة تكاثر خضرى vegetative phage) تتعرض لكلا النوعين من الطفرات وهما :

١- الطفرات التلقائية Spontaneous mutations

٢- الطفرات الناتجة عن المعاملة بالمطفرات Induced mutations

وأقسام المطفرات الثلاث التى سبق شرح أساسها الكيميائى

تحدث خلال تضاعف الفاج · وفى الحقيقة فان معظم المعلومات عن ميكانيكية حدوث هذه الطفرات قد تم اكتشافها من تجارب أجريت على طفرات الفاج ·

تأثير ترتيب القواعد النيتروجينية فى د ن أ على التطفر فى الفاج :

قام بنزر Benzer باستعمال الفاج الشهير والمعروف باسم تى ٤ (T_4) والذى يهاجم بكتيريا القولون المعروفة E. coli ويحللها بدراسة امكانية تطفر أى الليل Allele (أى موقع على المادة الوراثية الفيروسية وليكن أى زوج من القواعد) فكان السؤالين اللذان حاول بنزر الاجابة عليهما هما : هل تتطفر كل المواقع - داخل أى مورث - بدرجة متساوية ··· وهل المواقع التى تتطفر بمادة مطفرة معينة تظهر نفس الدرجة من التطفر بمواد مطفرة أخري ·

للاجابة على هذين السؤالين ··· قام بنزر بعمل خريطة تركيبية دقيقة للمورث rII فى الفاج تى ٤ (T_4) فالسلالة البرية Wild type لفاج تى ٤ (rII^+) تكون بلاكات Plaques صغيرة غير منتظمة الشكل على طبقة منتظمة Lawn من البكتيريا الحساسة ، وهى بكتيريا القولون - سلالة ب E.coli strain B أما طفرات تى ٤ فى المورث rII (rII^-) فانها تكون بلاكات كبيرة حادة منتظمة ، وعلى ذلك فانه يمكن عزل هذه الطفرات بسهولة من السلالة البرية عند تنميتها على البكتيريا المذكورة ·

وقد اكتشف بنزر أن جسيمات تى ٤ البرية (rII^+) تكون بلاكات على عائل آخر وهو سلالة بكتيريا القولون ك (K) ولكن جسيمات تى ٤ الطفرة (rII^-) لا تكون بلاكات على هذه السلالة ك ، وعند احداث عدوى مشتركة Mixed infection بواسطة طفرتين مختلفتين من تى ٤ (rII^-) فى السلالة ب (B) فان معظم البلاكات الناتجة تكون بالأبوين (وهى طفرتى rII^- المستخدمتين

فى احداث العدوى المشتركة) ولذلك فان هذه البلاكات الأخيرة تفشل فى تكوين بلاكات على بكتيريا القولون ك ولكن اذا حدث تبادل وراثى genetic recombination بين طفرتى (rII^-) المختلفتين ، فانه ينتج سلالة برية (rII^+) والتى تكون بلاكات على بكتيريا القولون ك. وبذلك تمكن بنزر من الكشف عن حدوث أى خلط وراثى بين الطفرات المختلفة .

عزل بنزر عددا كبيرا من السلالات (rII^-) لفاج تى ٤ ثم قام بعمل اصابة مزدوجة لكل اثنين من هذه الطفرات على السلالة ب (B) من بكتيريا القولون . ثم اختبر البلاكات الناتجة عن الاصابة المزدوجة للطفرات المذكورة باستخدامها لاصابة سلالات ك من بكتيريا القولون ، وذلك للكشف عن وجود السلالات البرية (rII^+) Wild type وقد استخدم بنزر الأسس الوراثية المعروفة عن العبور الوراثى crossing للطفرات ، وهى أنه كلما كانت مواقع الطفرتين المختلفتين بعيدة عن بعضهما كلما كانت نسبة تكوين الخلطات الوراثية genetic recombination بينهما مرتفعة (أو بمعنى آخر كلما كان عدد السلالات البرية rII^+ المتحصل عليها من الاصابة المزدوجه لهاتين الطفرتين كبيرة)... والعكس بالعكس ... أى كلما كان موقع الطفرتين المختلفتين قريبتين من بعضهما كلما كانت آلية التبادل الوراثى بينهما منخفضة . وعندما تكون الطفرتين فى نفس الموقع لا يحدث أى خلط وراثى Genetic recombination يمكن تقديره (شكل ١٨ـ١٠)

وبهذه الطريقة استطاع بنزر بناء خريطة دقيقة لجين rII فى الفاج تى ٤ وعزل سلالات تنتمى لأكثر من ٣٠٠ موقع (الليل) فى هذا الجين ، وكل منها يمثل زوج من القواعد Base pair.

وقد اكتشف بنزر أن معدل الطفرات فى كل موقع لم تكن عشوائية ، فقد لاحظ موقعين من هذا الجين تكثر فيهما الطفرات وسماهما المواقع الساخنة "Hot spots" واحدة منهما ظهرت فيها ٥٢ طفرة بينما الثانية ظهرت فيها ٢٧٥ طفرة . وأكثر من ذلك فان توزيع الطفرات

أ ـ الطفرتين عند نفس الموقع من المورث

E. coli B

عبور وراثى

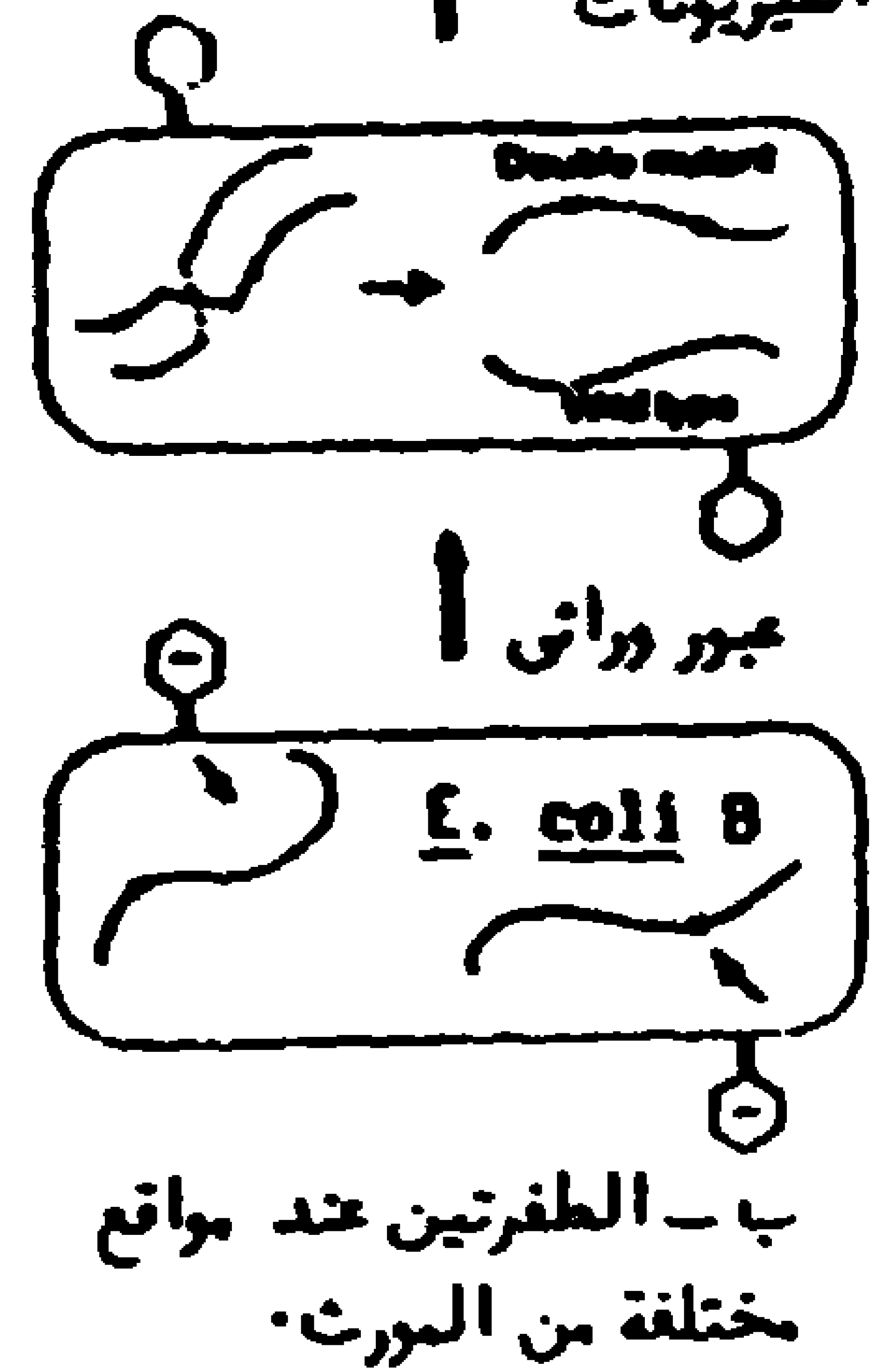
تضاعف واكتمال الفيريونات

جميع الفيريونات الناتجة تكون من نوع الطفـــرة الأصلية

عند الحقن على E. coli K فان السلالة البرية (+) فقط تعطى بلاكـــات

الفيريونات الناتجة خليط من الطفرات (ـ) والسلالــــة البرية

تضاعف واكتمال الفيريونات



ب ـ الطفرتين عند مواقع مختلفة من المورث.

شكل ١٨ـ١٠ : طريقة اعداد الخريطة لمورث (جين) rII لفاج تى ٤

أ ـ يسمح لطفرتين من rII بغزو بكتيريا القولون سلالة B وحيث أن السلالتين تحمل الطفرة فى نفس الموقع من مورث rII فالتبـــادل الوراثى بين الطفرتين لا ينتج عنه الا الطفرتين الأبويتين ، ولا ينتـــج عن هذا التبادل الوراثى الطراز البرى من تى ٤ Wild type وبذلك لا تستطيع الفيروسات البنوية الناتجة عن هذه الاصابة تكوين بلاكـــات على خلايا بكتيريا القولون سلالة K12.

ب ـ يسمح لطفرتين من rII بغزو بكتيريا القولون سلالة B وحيـــث أن السلالتين تحمل الطفرة فى موقعين مختلفين من مورث rII فالتبادل الوراثى بين الطفرتين ينتج عنه فاجات بنوية تختلف عن الأبوين ، فأحـد نواتج التبادل الوراثى تحتوى على الطفرة المزدوجة وهى لن تستطيـــع تكوين بلاكات على خلايا بكتيريا القولون E.coli K12 بينما الناتـــج الآخر للتبادل الوراثى يكون الطراز البرى الذى يستطيع تكوين بلاكـــات على خلايا K12.

الناتجة عن استخدام مطفرات (مواد مطفرة) معينة لم يكن عشوائيا ، فلم تشترك أى مادتين مطفرتين فى تكوين نفس المواقع الساخنة . وكل مادة مطفرة أعطت توزيعا مختلفا للطفرات على هذا المورث (rII).

ولا تمثل هذه المواقع الساخنة وجود قواعد نيتروجينية غير عادية ، فقد ثبت أن فاج تى ٤ يحتوي على القواعد الأربع المعروفة فقط . وقد توصل بنزر الى أن حساسية المواقع الساخنة للتطفر انما ترجع بالدرجة الأولى الى تأثير ترتيب القواعد النيتروجينية المجاورة للقواعد النيتروجينية فى المواقع الساخنة . ومازالت طبيعة هذا التأثير غير معروفة حتى الآن .

وقد استخدمت طريقة بنزر فى بناء الخرائط الوراثية للفاج فى تشكيل الخرائط الوراثية للأحياء الدقيقة الخلوية مثل البكتيريا ، وبنى على أساسها اختبارات وراثية هامة مثل اختيار سيس- ترانس Cis-trans test.

أنواع الطفرات فى الفاج :

Mutant types of Bacteriophage

تتكون طفرات عديدة لا يمكن كشفها فى الفاج ، كما تتكون طفرات قاتلة نتيجة لتأثيرها على صفة أساسية ، وكذلك تتكون طفرات يسهل كشفها نتيجة حدوث تغيرات فى الشكل الظاهري للبلاكات Plaque morphology أو تعديل المدى العوائلى التى يمكن أن يصيبها الفاج Alteration in host range.

عندما تغزو السلالة البرية Wild type لفاج تى ٤ بكتيريا القولون السلالة الحساسة وهى E. coli strain B تحت ظروف مضبوطة بعناية فان البلاكات الناتجة تظهر متجانسة وذات خواص مميزة ومحددة ، فهى صغيرة ولها حواف غير واضحة Fuzzy وغير منتظمة .

ولكن عند فحص عدد من البلاكات للسلالة البرية لفاج تى ٤ يلاحظ دائما وجود عدد قليل من البلاكات لا تنطبق عليه هذه الصفات، فاذا أخذت البلاكات ذات الصفات المخالفة واستخدمت لاصابة خلايا جديدة من السلالة ب B لبكتيريا القولون تظهر معظم البلاكات الجديدة بصفات لا تماثل السلالة البرية لفاج تى ٤ ولكن تظهر بصفات مماثلة للبلاكات ذات الصفات المخالفة ، وبذلك يمكن استنتاج أن البلاكات ذات الصفات المخالفة هى فى الحقيقة تمثل طفرة وراثية حقيقية ، والجدول (١٨-٢) يوضح عددا الطفرات الوراثية الحقيقية التى أمكن عزلها من مجموعة فاجات تى ذات الأرقام المزدوجة T even phage.

ويجب الاشارة الى أن نواتج معظم المورثات فى الفيروسات هامة جدا لتكوين فيريونات كاملة طبيعية . وبالرغم من أنه يمكن تحمل درجة محدودة من التغيرات (الطفرات) فى بعض المورثات مثل مورثات الغطاء البروتينى أو بعض الانزيمات الفيروسية ، الا أن معظم الطفرات تمنع تكوين أو بناء جزيئات فيروسية طبيعية .

وقد أمكن التوصل الى نوع من الطفرات تسمى الطفرات المميتة المكيفة الشروط Conditionally expressed lethal mutation مثل :

(١) الطفرات الحساسة للحرارة Heat sensitive mutations
وهذه الطفرات لا تعطل المورث كلية ولكنها تؤدى الى انتاج بروتين حساس للحرارة العالية ، بحيث يعمل المورث بصفة طبيعية على درجة الحرارة المنخفضة ٣٠°م ويتعطل عمله على درجة حرارة مرتفعة ٤٠°م .

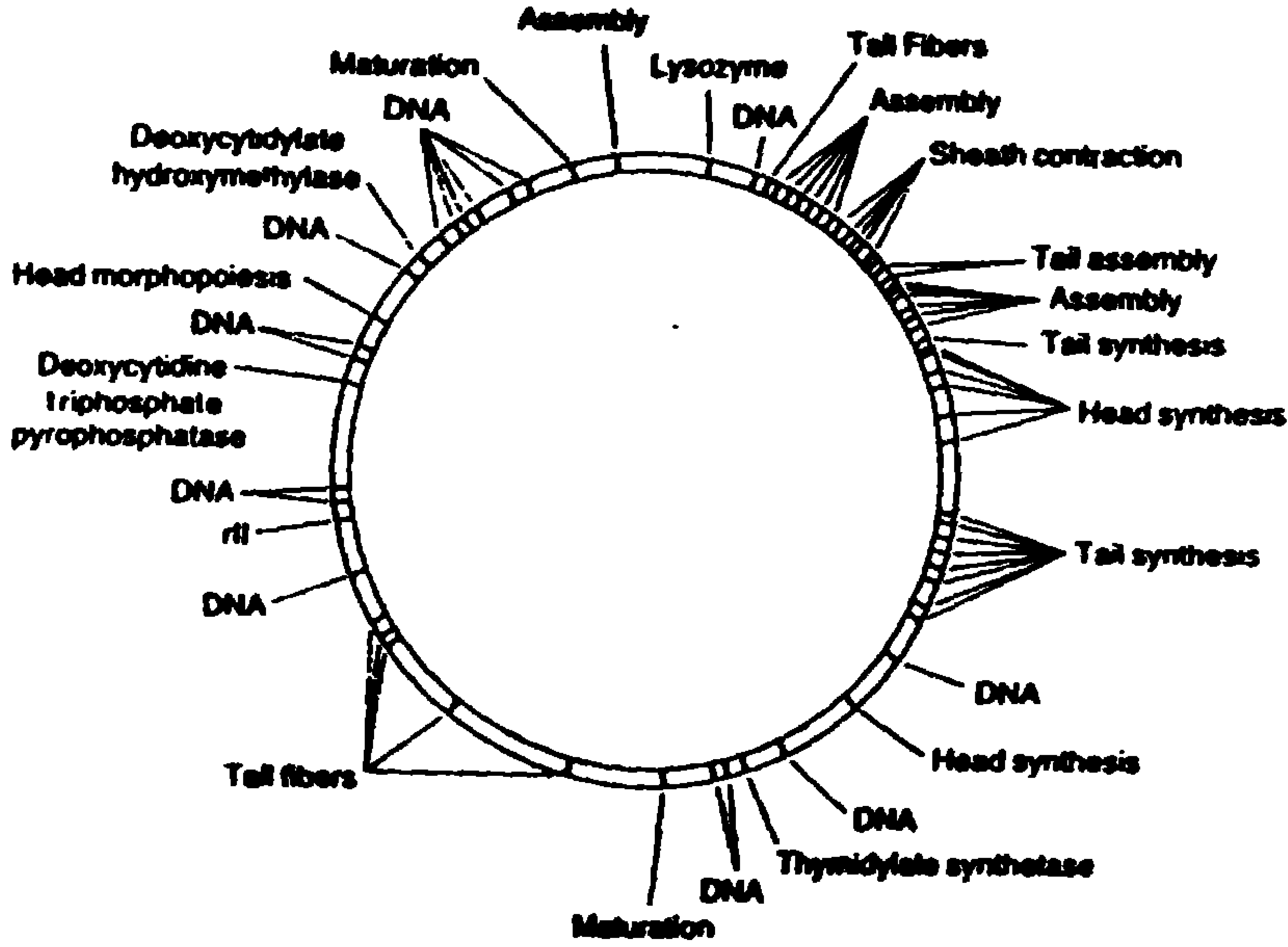
(٢) الطفرات التى تؤدى الى تكوين شفرة خالية من المعلومات Nonsense mutation وهى UGA,UAG,UAA فى بروتينات أساسية مثل بروتينات الرأس head protein فى فاج تى ٤ . وقد استعملت شفرة UAG بصفة خاصة وتسمى Amber codon فى تثبيط بناء بروتين

جدول ١٨ـ٢ : بعض أنواع طفرات فاجات تى ذات الأرقام المزدوجـــة

التأثير الأساس للطفرة Primary effect of mutations	الصفات الظاهرية Phenotype	نوع الطفـــرة Type
غير معروف	بلاكات كبيرة بحواف حادة	تحليل سريع Rapid lysis
بناء مكونات الفاج ببطء	بلاكات صغيرة جدا	تكوين بلاكات صغيرة minute
تعديل فى السلاسل الببتيدية لليفات الذيلية .	تمتز وتصيب سلالات بكتيريـا مقاومة للاصابة بالسلالـــة البرية للفاج .	اتساع المدى العوائلى Host range
ليفات ذيلية غير عاديـــة تتطلب التريبتوفان .	تحتاج عامل مساعد مثـــل التريبتوفان للامتزاز علـى الخلية العائل .	الاحتياج للعامل المساعد Cofactor-requiring
تحدث تعديلا فى الغشاء الخلوى للخلية العائل بحيث لا يسمح بمرور الأكريفلافين.	تكون بلاكات على آجار يحتـوى على صبغة اكريفلافين بتركيزات قاتلة للسلالة البرية من الفاج	المقاومة لصبغـــة أكريفلافين Acriflavin-resistant
تعديل بروتين الرأس ليكـون اكثر نفاذية .	تتحمل التخفيف السريع من ٢ مولر كلوريد الصوديوم الى ماء مقطر	الصدمة الأسموزيـــة Osmotic shock
بناء ليسوزايم غير فعال .	لا تنتج هالة حول البلاكات	ليسوزايم Lysozyme

الرأس بصفة خاصة ، وهذين النوعين من الطفرات المميته المكيفـــة الشروط قد أمكن ايجادها تقريبا لكل المورثات فى فيروس تى ٤ وقـــد أمكن باستخدام هذه الطفرات بناء خريطة وراثية باستخدام اختبـــارات

التبادل الوراثى التى أستعملها بنزر والشكل (١٨ـ١١) يوضح خريطة مبسطة لكروموسوم الفاج تى ٤ ٠ وكما يلاحظ فيها أن الجينات التى تتحكم فى صفة معينة من صفات الفيروس تتجمع فى تجمعات clusters.



شكل ١٨ـ١١ : الخريطة الوراثية لفاج تى ٤ T_4

ـ الديناميكية الوراثية للفيروسات

ان المادة الوراثية للفيروسات المتضاعفة تكون دائما فى حالة ديناميكية مثلها فى ذلك مثل أى مجتمع من خلايا الأحياء الدقيقة النامية ، وذلك من حيث وجود أنواع من الطفرات المختلفة ٠ ويوجد عاملان يؤثران فى هذه الديناميكية وهما :

أ ـ معدل التطفر Mutation rate : وهو قيمة ثابتة ٠

ب ـ ومعدل الانتخاب للطفرات mutation frequency وهو قيمة متغيرة ويتوقف على معدل التطفر ٠

وعلى سبيل المثال ٠٠٠ عند اصابة سلالات ب B لبكتيريا القولون الحساسة بواسطة فاج تى ٢ فان معظم الخلايا تصاب وتنفجر

وتنتج فيروسات جديدة ، ولكن نسبة صغيرة من الخلايا (طفـــــرات) تصبح مقاومة لاصابة الفاج Phage-resistant mutants.

وهذه الخلايا (الطفرات) المقاومة للغزو بالفاج اكتسبـــــت مقاومتها للفاج نتيجة لتطفر مواقع الاستقبال في سطحها بحيث أنهـــــا لا تمتز الفيروسات (السلالة البرية لفاج تى ٢) ومن السلالة بB لبكتيريا القولون الحساسة للغزو بالسلالة البرية Wild Type لفاج تى ٢ T_2 أمكن عزل طفرة بكتيرية تقاوم الغزو بالسلالة البرية لفاج تى ٢ ، ويرمـــز لهذه الطفرة بالرمز ب/٢ (B/2) تمييزا لها عن السلالة البرية الحساسة للغزو بالفاج المذكور . وعلى ذلك فان السلالة ب/٢تقاوم الغزو بالسلالـة البرية لفاج تى ٢ نتيجة لطفرة في بروتينات موقع استقبال الفاج على سطح الخلايا .

عند حقن ١٠^٦ (مليون) فاج تى ٢ أو أكثر من ذلك على طبقــة من الطفرة البكتيرية المقاومة للغزو ب / ٢ (B/2) فانه يظهر علـــى الأطباق عدد من البلاكات ــ على عكس توقعاتنا . وعند عزل وتنقيـــة الفيروسات من هذه البلاكات الجديدة وجد أنها طفرات نتج عنهـــا اتساع المدى العوائلي Host-range mutants وهذه الطفرات تستطيـــع الآن غزو سلالات البكتيريا ب/٢ (B/2) وكذلك سلالات البكتيريـــاب B بمعنى أن الطفرة الفيروسية المتحصل عليها وسعت مدى العوائـــل التي تصيبها . وهذه الطفرة تمثل تغيير زوج Base-pair واحد مـــن القواعد النيتروجينية في المورث الذى يتحكم في تركيب بروتينات الليفـــات الذيلية Tail fiber وهى عبارة عن أعضاء الامتزاز الخاصة بفاج تـــى ٢ وهذه الطفرة الفاجية الجديدة رمز لها بالرمز ت ٢ هـ (T_2h) .

عند حقن البكتيريا ب / ٢ (B/2) بالفاج الجديد ت ٢هـ (T_2h) أمكن عزل سلالة بكتيرية جديدة مقاومة للغزو بهذا الفاج ت ٢ هـ (T_2h) وهكذا تتكرر الدورة كلها بعزل طفرات اتساع المدى العوائلي مـــن الفاجات وعزل طفرات بكتيرية مقاومة لها .

وفيما يبدو أن أى تعديل فى طريقة تركيب configuration بروتين مواقع الاستقبال على سطح الخلية البكتيرية يمكن مقابلته بتغيير مماثل فى بروتينات أعضاء الامتزاز للفاج . وفى الطبيعة تؤدى هذه القدرة على التطفر لكل من البكتيريا والفاجات الخاصة بها الى امكانية تواجدهما سويا ، فعند أى لحظة تتواجد كلا الخلايا الحساسة للاصابة بالفيروسات ، كما تتواجد الخلايا المقاومة لهذه الاصابة ، كما تتواجد الفيروسات القادرة على الاصابة والفيروسات غير القادرة على الاصابة .

ومن ذلك ، توصلنا الى أنه لا يمكن النظر الى الفيروسات على أنها ثابتة وراثيا بل أنها متغيرة باستمرار حتى وان كانت الفيريونات (الطور الخارجي للفيروسات) تظل ثابته بدون تغيير خارج الخلايا .

نقل الصفات الوراثية بالحمل بالفاج

Transdiction By Bacteriophage

اكتشفت ظاهرة النقل بالحمل بالفاجات ، أى نقل الصفات الوراثية البكتيرية بواسطة الفاج Transduction صدفة عندما كان زندر وليدربرج Zender & Ledgerberg فى عام ١٩٥٢ م يحاولان معرفة ما اذا كان هناك تزاوج Conjugation بين سلالتين من بكتيريا السالمونيلا Salmonella . فقد قاما هذان العالمان بخلط السلالتين البكتيريتين وزرعهما على مستنبت غذائى لا يسمح لأيهما منفردة بالنمو ، ولكن تسمح لخلطة وراثية recombinant منهما معا بالنمو ، وذلك لانتخاب بكتيريا تجمع الصفات الوراثية للسلالتين Recombinant . وقد تمكنا فعلا من عزل بعض البكتيريا التى تحمل الصفات الوراثية لكلا السلالتين بمعدل ظهور منخفض Low frequency.

وفى سلسلة من التجارب أثبت زندر وليدربرج أن الخلط الوراثى لم يتم نتيجة للتزاوج بين السلالتين الأبويتين ، ولكن على العكس من ذلك ، إتضح أن أحد السلالتين الأبويتين Parental strain

أفرزت جسيمات فاج معتدلة Temprate phage وأن هذه الجسيمات أصابت السلالة الأبوية الثانية . وبالطبع فان عددا كبيرا من خلايا السلالة الأبوية الثانية انفجر نتيجة للاصابة ، ولكن عددا من خلايا تلك السلالة الأبوية الثانية تحمل الاصابة ، بل وعاش وتكاثر على المستنبت الغذائي الذى لم يكن يسمح لها بالنمو قبل الغزو بالفاج ، واتضح من ذلك أن الخلايا التى عاشت ونمت لابد وأن تكون قد استقبلت قطع من المادة الوراثية للخلية الأبوية الأولى عن طريق جسيم الفاج .

والخلية الأبوية الأولى التى أعطت جزءا من مادتها الوراثية تسمى الخلية المعطية Donor cell أما الخلية الأبوية الثانية التى استقبلت جزء من المادة الوراثية فتسمى الخلية المستقبلة Recipient cell والمادة الوراثية الجديدة التى أضيفت للخلية المستقبلة كثيرا ما تسمى المادة الوراثية الأجنبية Exogenote وذلك تمييزا لها عن المادة الوراثية الأصلية Endogenote للخلية المستقبلة ، وقد سميت ظاهرة انتقال صفات وراثية من خلية بكتيرية الى خلية بكتيرية أخرى بواسطة فاج باسم (النقل بالحمل فالفاج) Transduction.

لذلك ... ففى هذه العملية تدمج قطعة من كروموسوم بكتيرى داخل جسيم فاج (فيريون كامل) وعندما يغزو هذا الفيريون خلية عائل جديدة فانه يحقن المادة الوراثية من الخلية السابقة (المعطية) فى الخلية العائل الجديدة (المستقبلة) ... وهذه الخلية المستقبلة تصبح ثنائية المجموعة الصبغية (لعدد من المورثات والتى أدخلت اليها بواسطة الفاج) بصفة جزئية Partial diploid .. وتسمى الخلية المستقبلة فى هذه الحالة زيجوت جزئى Merozygote, partial zygote.

وهذا الفاج الذى اكتشفه زندر وليدربرج هو الفاج بى ٢٢ (P22) وهو ينقل أى مورث من مورثات البكتيريا Salmonella بدرجة متساوية مع المورثات الأخرى لهذه البكتيريا . لذلك يعرف هذا النوع لنقل

المورثات البكتيرية باسم (النقل بالحمل العام) للصفات الوراثية بالفاج Generalized transduction ومن أمثلة الفاجات التى تقوم بهذا النوع من النقل الفاج بى ٢٢ (P22).

أما النوع الآخر لنقل الصفات الوراثية بواسطة الفاج فهو شائع فى كلا من البكتيريا E. coli، Salmonella وتقوم به فاجات معتدلة أخرى مثل فاج لامدا Lambda والذى يرمز له بالرمز λ ٠ وهذا النوع من الفاجات لا ينقل كل المورثات البكتيرية بدرجة متساوية ولكن وجد أن هذا الفاج ينقل مورثات (صفات وراثية) خاصة من الخلية المعطية الي الخلية المستقبلة ، وأكثر المورثات التي ينقلها هى المورثات المسئولة عن بناء البيوتين ويرمز لها بالرمز (بيو Bio) أو المورثات المسئولة عن تمثيل الجالكتور ... ويرمز لها بالرمز (جال Gal).

وفى نفس الوقت... فقد وجد أن كروموسوم لامدا عند وجوده فى حال الفاج الأولى Prophage يحتل موقعا ثابتا على كروموسوم الخلية البكتيرية بين موقع مورثات الجالكتور (جال) والبيوتين (بيو) السابق الذكر ... وبذلك فان هذا الفاج ينقل المورثات القريبة من موقع اندماجه على كروموسوم الخلية بأعلى نسبة ٠ وتقل نسبة انتقال المورثات الأخرى بواسطة هذا الفاج كلما بعدت عن موقع اندماج الفاج مع كروموسوم الخلية ٠ ولذلك يسمى انتقال المورثات (الصفات الوراثية) فى هذه الحالة النقل الخاص للصفات الوراثية بالفاج Specialized transduction.

والنقل بالحمل بالفاج للصفات الوراثية Transduction معروف فى الأنواع المختلفة من مجموعة البكتيريا المعروفة Enteric bacteria وكذلك فى بعض أجناس سود وموناس Pseudomonas وستافيلوكوكس Staphylococcus وباسيلس Bacillus ٠ وحيث أن معظم أنواع البكتيريا وأجناسها يحتوى الفاجات المعتدلة Temprate phages فان نقل الصفات الوراثية بواسطة الفاجات تبدو أكثر الوسائل المتبعة لتكوين الخلطات الوراثية Genetic recombinant فى البكتيريا ٠

وذلك بعكس الطرق الأخرى لتكوين الخلطات الوراثيـــــــة recombination فى البكتيريا مثل التزاوج Conjugation وكذلك نقل الحمض النووى د ن أ خلال سطح الخلية والمعروف باسم النقل المباشـــر للصفات الوراثية Transformation.

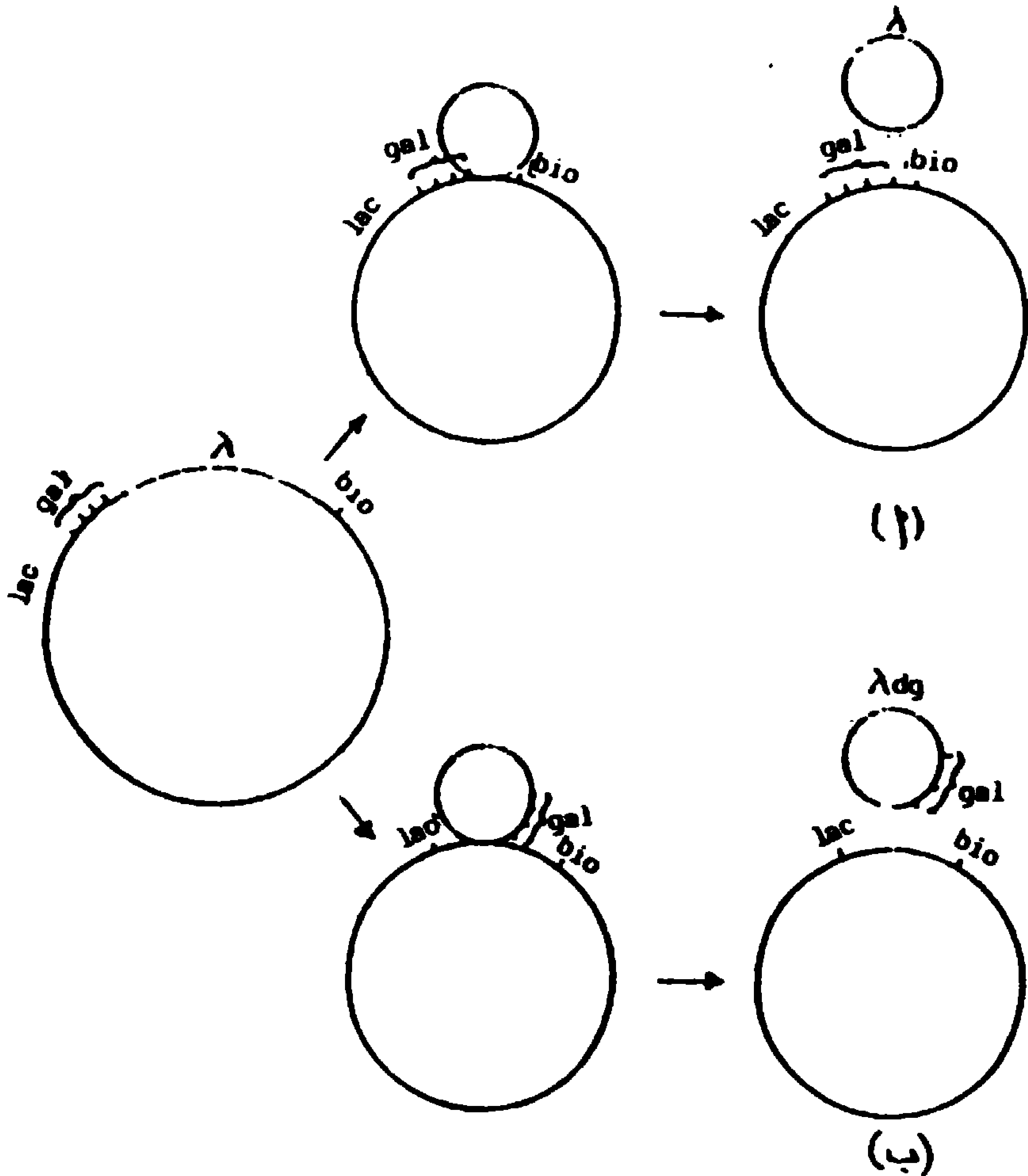
وهاتين الطريقتين لتكوين الخلطات الوراثية لم يكتشفا الا فـــى عدد قليل من البكتيريا ٠

ميكانيكية حدوث النقل بالحمل الخاص للصفات الوراثية بالفاج :

The mechanism of specialized transduction

فى مزرعة بكتيريا القولون المعروفة E. coli ذات القـــدرة الكامنه على التحلل lysogenic تحتوى كل خلية من خلاياها على نسخـة من الفاج لامدا (λ) فى صورة فاج أولى Prophage مندمج مـع كروموسوم الخلية بين موقع مورثات الجالكتور (جال Gal) والبيوتيـــن (بيو Bio) وعند تعريض هذه المزرعة لظروف حث Induction معينة تؤدى الى تحول الفاج الأولى الى الحالة الخضرية فان الفاج الاولـــى -عادة- ينفصل من كروموسوم الخلية بواسطة عملية عكسية لعمليـــــة الاندماج فى النقط الطبيعية لاتصاله مع كروموسوم الخلية ثم يبدأ فـــى مضاعفة نفسه الى أن تتكون فيريونات كاملة وتتفجر الخلية لتنتج فيريونـــات عادية ٠ ولكن فى حالات نادرة عند تعرض خلية ذات القدرة الكامنه علـــى التحلل لظروف الحث Induction فان الفاج الأولى ينفصل من كروموسوم الخلية ليس فى النقط الطبيعية لنقط اتصاله مع الكروموسوم بل فـــى أماكن أخرى ، فينتج عن ذلك تكون حلقات الحمض النووى د ن أ DNA تحتوى على معظم كروموسوم لامدا مضافا اليه قطعة من كروموسوم الخليـــة من أحد جانبى نقط الاتصال مع الكروموسوم على حسب المكان الذى حدث فيه انفصال كروموسوم الفيروس عن كروموسوم الخلية (شكل ١٨-١٢) ٠ ثم تتضاعف هذه المادة الوراثية وتكون فيريونات كاملة تنطلق عند انفجـــار

الخلية . فاذا كانت القطعة المقتطعة من كروموسوم البكتيريا تشمل مورثات الجالكتوز (جال Gal) فان الفاجات الناتجة تسمى لامدا ناقصة ومحتوية على مورثات الجالكتوز λdefective carrying gal loci ويرمز لها بالرمز λ dg.



شكل ١٨ــ١٢ : تكوين جسيمات فاج لامدا ناقصة ومحتوية على مورثات الجالكتوز :

أ ــ تنتهي بتكوين جسيمات لامدا طبيعية (السلالة البرية)

ب ــ تنتهي بتكوين جسيمات لامدا ناقصة ومحتوية على مورثات الجالكتوز λ dg.

أما اذا كان قطعة الحمض النووى د ن أ المقتطعة من كروموسوم البكتيريا تشمل مورثات البيوتين (بيو Bio) فان الفاجات الناتجة تسمى لامدا ناقصة ومحتوية على مورثات البيوتين λ defective carrying bio loci ويرمز لها بالرمز λd bio .

وحيث أن كمية د ن أ التى يمكن تعبئتها فى الغطاء البروتينى لرأس الفاج لامدا ثابتة ومحدودة فان اضافة مورثات الجالكتوز أو مورثات البيوتين تعنى ضرورة استبعاد جزء من مورثات لامدا من الطرف الآخر للمادة الوراثية للفيروس . وهذا يشرح لماذا يجب أن تكون الفاجات الناقلة لصفات وراثية تكون دائما ناقصة defective كما أنه يفسر لنا أيضا لماذا لا يمكن الحصول على فاجات لامدا ناقلة للصفات الوراثية Transducing particles محتوية على كلا من مورثات الجالكتوز والبيوتين فى نفس الفيريون .

فاذا كانت مزرعة البكتيريا ذات القدرة الكامنه على التحلل تحتوى مورثات جالكتوز عاملة ، وهو ما سنعبر عنه بالرمز gal^+ . فعند تعريضها لظروف حث Induction فان الفيروسات لناتجة تحتوى على واحد جزيء فاج لامدا ناقصة ويحمل مورثات الجالكتوز λdg لكل ١٠^٥ جسيمات فاج طبيعى .

وعند استخدام هذه الفاجات lysate لاصابة خلايا مزرعة ليس لها قدرة كامنة على التحلل Non lysogenic culture ولا تستطيع تمثيل الجالكتوز (gal^-) لأن مورثات الجالكتوز بها غير عاملة (لوجود طفرة بها مثلا) فان بعض خلايا هذه المزرعة ستصاب بفاجات لامدا الناقصة والحاملة لمورثات الجالكتوز λdg حيث يندمج كروموسوم هذه الفاجات الناقصة والمحتوى على مورثات gal^+ (عاملة) مع كروموسوم الخلية البكتيرية والذى يحتوى على مورثات gal^- (غير عاملة) وبذلك تصبح الخلية مزدوجة المجموعة الكروموسومية Partial diploid للموقع الجالكتوز gal^+ / gal^- وتتحول الخلية بذلك من خلية غير قادرة على تمثيل الجالكتوز الى خلية قادرة على تمثيل الجالكتوز بفضل المورثات

التى حملت اليها بواسطة الفاج ، لذلك فان النقل بالحمل الخاص للصفات الوراثية بالفاج specialized transduction يشمل اضافة كروموسوم الفاج الأولى Prophage الناقص والمحتوى على قطعة من دنأ من الخلية المعطية Donor cell.

الحمل الخاص للصفات الوراثية بكفاءة عالية :

High frequency specialized transduction

عند اصابة infection خلايا البكتيريا غير القادرة على تمثيل الجالكتوز gal^- بعدد كبير من الفاجات High phage multiplicity بحيث أن كل خلية تصاب بالفاج λdg لامدا الناقص والحامل لمورثات جال gal^+ تصاب أيضا بفاج لامدا عادى λ فان هذه الخلية تصبح ذات قدرة كامنه مزدوجة على التحلل Double lysogen تحمل كلا من الفاج الأولى العادي λ والفاج الأولى الناقص λdg عند عزل هذه الخلايا ذات القدرة الكامنة المزدوجة وتنميتها تتكون مزرعة culture من خلايا مزدوجة القدرة الكامنة على التحلل Double lysogen.

وعند تعريض هذه الخلايا لظروف (حث induction) تسمح بتحول الفاج الأولى Prophage الى مرحلة التضاعف الخضرى vegetative state فان المادة الوراثية لفاج لامدا λ الطبيعى تسد النقص فى المادة الوراثية لفاج لامدا الناقص λdg وينتج عن ذلك تكون كلا النوعين من فاج لامدا الطبيعى λ والناقص λdg بأعداد متساوية فى خلاصة تحلل الخلايا Lysate.

وعند استخدام خلاصة تحلل الخلايا Lysate المذكور لاصابة خلايا لا تستطيع تمثيل الجالكتوز gal^- فان نصف الفاجات فى هذه الخلاصة الأخيرة تنقل مورثات الجالكتوز gal العاملة الى الخلايا وتحولها بذلك من خلايا غير قادرة الى خلايا قادرة على تمثيل الجالكتوز gal^+ وتسمى هذه الظاهرة باسم حمل الصفات الوراثية بكفاءة عالية High frequency transduction.

ميكانيكية حدوث النقل بالحمل العام للصفات الوراثية بالفاج

The mechanism of generalized transduction

تختلف جسيمات الفاج التى تقوم بالنقل بالحمل الخاص للصفات الوراثية Specialized transduction عن جسيمات الفاج التى تقوم بالنقل بالحمل العام للصفات الوراثية Generalized transduction فى أن الحمض النووى د ن أ البكتيرى يكون مرتبطا بمعظم المادة الوراثية (الحمض النووى د ن أ) الفيروسية ارتباطا متكافئا covalently فى جسيمات الفاج التى تقوم بالحمل الخاص للصفات الوراثية . أما جسيمات الفاج التى تقوم بالنقل بالحمل العام للصفات الوراثية generalized transduction فانها تحتوى على جزء صغير فقط من المادة الوراثية الفيروسية (الحمض النووى د ن أ) وعادة لا تحتوى على أى مادة وراثية فيروسية على الاطلاق وتحتوى على الحمض النووى د ن أ البكتيرى مغلفا بغطاء بروتينى فيروسى .

لذلك ... فان خلاصة الخلايا المنفجرة (المتحللة) lysate الناتجة عن غزو فاجات النقل بالحمل العام للصفات الوراثية تحتوى على نوعين من الفاجات:

(١) فاجات طبيعية normal ... وهى تشكل الأغلبية الكبيرة من أعداد الفاجات فى الخلاصة وتحتوى على الحمض النووى د ن أ الفيروسى فقط .

(٢) الفاجات الناقلة للصفات الوراثية Transducing particles ... وهى تشكل الأقلية وتحتوى بداخلها على الحمض النووى د ن أ البكتيرى بصفة أساسية .

وهذا الفرق فى طبيعة الحمض النووى د ن أ فى كلا من جسيمات الفاج الناقلة بالحمل العام مثل فاج بى ١ P_1 وجسيمات الفاج الناقلة بالحمل الخاص للصفات الوراثية مثل فاج لامدا ناتج عن الطريقة التى يتكون بها كل منهما .

فالمادة الوراثية للفاجات الناقلة بالحمل العام للصفات الوراثية مثل فاج بى ١ p_1 لا تتكامل مع كروموسوم البكتيريا، بل تظل منفصلة كبلازميد مستقل autonomous plasmid والفاج بى ١ p_1 مثل غيره من الفاجات المعتدلة Temprate phages قد يدخل فى دورة التضاعف الخضرى Vegetative cycle فيتضاعف مباشرة بعد غزوه الخلايا وينتج فيريونات جديدة تعيد الدورة أو يدخل الدورة الكامنه للتحلل Lysogen-ic cycle وفيها تظل المادة الوراثية للفاج فى حالة كامنة (فاج أولى prophage) دون أن تندمج مع كروموسوم الخلية (كما سبق شرحه فى بداية هذا الباب) وعند تحول الفاج الأولى الى الحالة الخضرية تتكسر المادة الوراثية البكتيرية (كروموسوم الخلية) الى قطع من الحمض النووى دنأ وكل قطعة تحمل عددا من الصفات الوراثية (المورثات) . هذه القطعة من الحمض النووى البكتيرى والتى تحمل واحدة أو أكثر من الصفات الوراثية البكتيرية للخلية المعطية donor cell تأخذا غطاءا بروتينيا فيروسيا (محفظة Capsid) وتكون جسيمات فيروسية ناقلة بالحمل العام لصفات وراثية بكتيرية، وذلك نظرا لأن هذه الجسيمات قد تحمل أى قطعة من المادة الوراثية البكتيرية (الكروموسوم البكتيرى) .

وعندما تغزو هذه الفاجات (الناقلة بالحمل العام لقطع من المادة الوراثية البكتيرية من الخلايا المعطية) Transducing particle خلايا جديدة (خلايا مستقبلة Recipient cell) فان الخلايا الجديدة تكسب بعض الصفات الوراثية للخلية المعطية . ولكن المادة الوراثية لتلك الفاجات الناقلة (وهى مادة وراثية بكتيرية) لا تتضاعف فى الخلية الجديدة ولا تؤدى الى انفجار الخلية كما هو الحال عندما تغزو فيروسات طبيعية خلايا حساسة .

وكما يلاحظ هنا أن المادة الوراثية الموجودة داخل جسيمات الفاج الناقلة بالحمل العام للصفات الوراثية هى أصلا من أصل بكتيرى وليست من أصل فيروسى ، وهذا ما يحدث فعلا بعكس الحال فى الفاجات الناقلة بالحمل الخاص والتى تكون معظم المادة الوراثية بها من أصل

فيروس مرتبط بها قطعة من المادة الوراثية البكتيرية ارتباطا متكافئا ٠

ونتيجة لذلك فان الفاجات الناقلة بالحمل الخاص للصفات الوراثية مثل فاج لامدا (λ) تنقل الصفات الوراثية القريبة من موقع اتصال المادة الوراثية للفاج مع كروموسوم الخلية - اما الفاجات الناقلة بالحمل العام للصفات الوراثية فانها قد تحمل أى قطعة من كروموسوم الخلية ، وبذلك فهى تنقل أى مورث (صفة وراثية بكتيرية) أو بمعنى آخر نقل جميع مورثات الخلية العائل بدرجة متساوية ، كما أن الفاجات الناقلة بالحمل العام للصفات الوراثية تتكون سواء دخلت المادة الوراثية الفيروسية فى مرحلة التضاعف الخضرى vegetative cycle أو دخلت مرحلة الفاج الأولى prophage ثم عمل لها حث Induction.

ومما هو جدير بالذكر أن فاج لامدا (λ) وهو من الفاجات الناقلة بالحمل الخاص للصفات الوراثية لا يكون جسيمات ناقلة للصفات الوراثية اذا لم يدخل فى مرحلة الفاج الأولى prophage٠ فاذا تم غزو خلايا حساسة للفاج لامدا (λ) بحيث تبدأ دورة التحلل lytic cycle مباشرة (ودون تحول الخلية الى خلية ذات قدرة كامنة على التحلل lysogenic) فان جزئيات لامدا الناقصة والحاملة لمورثات الجالكتوز (λdg) أو البيوتين (λd bio) لا تتكون اطلاقا ٠ ولكن لتكوين هذه الفاجات الحاملة للمورثات الخاصة λdg أو λd bio فلابد أن تدخل المادة الوراثية للفاج الى حالة الفاج الأولى prophage ثم تعرض الخلايا لظروف حث تؤدي الى تحول الفاج الأولى الى فاج خضرى ٠

بعض الفاجات مثل فاج بى ٢٢ (P22) يستطيع أن يعمل كناقل بالحمل العام أو ناقل بالحمل الخاص للصفات الوراثية البكتيرية ٠ فهذا الفاج (بى ٢٢) يعمل كناقل عام عندما يؤدي غزو الخلايا الى دورة التحلل مباشرة lytic cycle ٠ وفى هذه الحالة لا يندمج الحمض النووى الفيروسى مع الحمض النووى البكتيرى ٠ بل يتم تضاعف الفاج مباشرة وتتكسر

قطع الحمض النووى البكتيرى ، ثم تغلف قطع منه بغطاء بروتينى تنطلــق عند انفجار الخلايا مع الفيروسات العادية · وهذه عند غزوها لخلايــا جديدة تنقل أى صفة وراثية بكتيرية الى الخلايا الجديدة بدرجــة متساوية ·

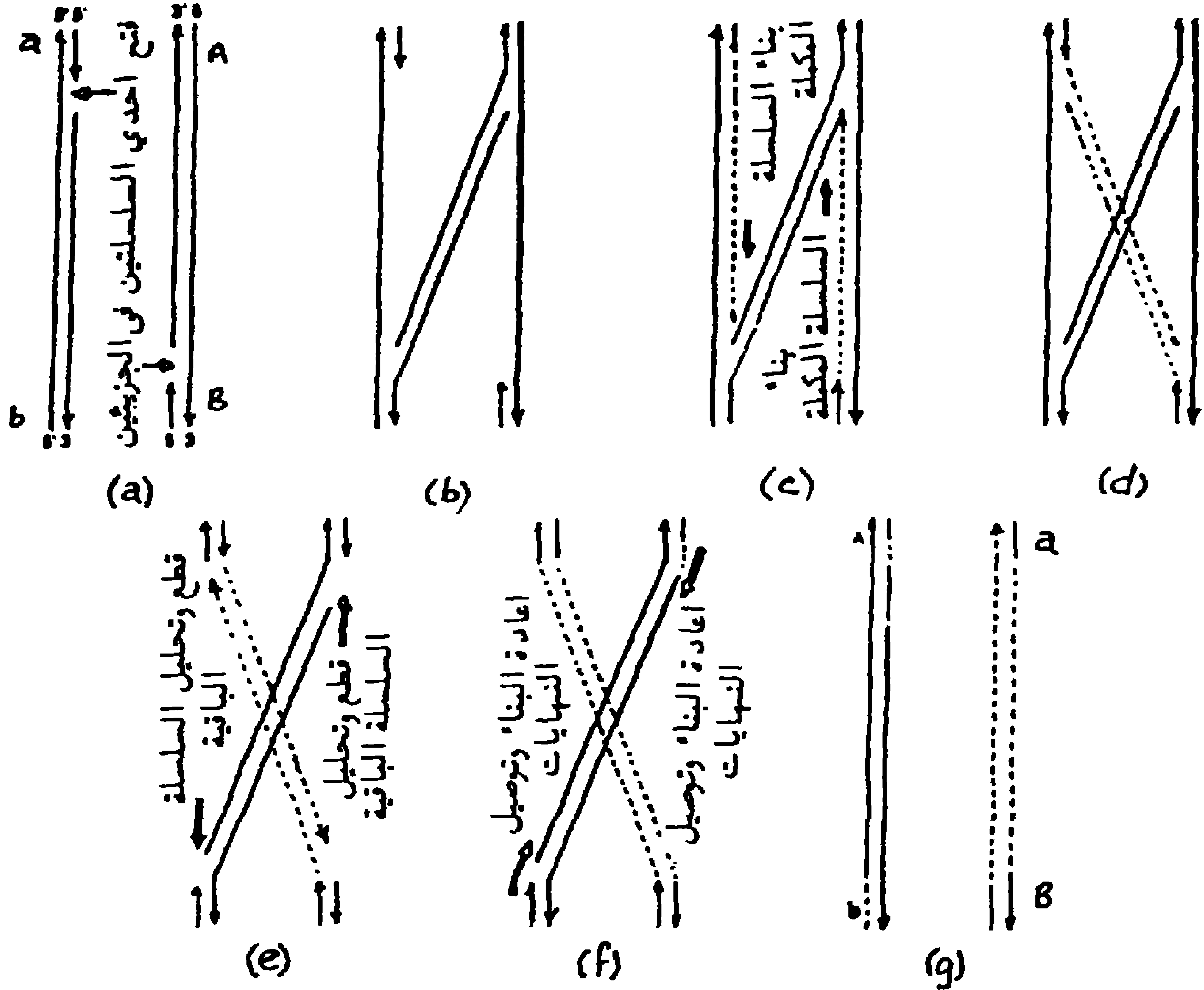
وكذلك يعمل فاج بى ٢٢ (p22) كناقل بالحمل الخاص للصفات الوراثية البكتيرية عندما يؤدى غزو الخلايا به الى دورة القدرة الكامنــة على التحلل Lysogenic cycle حيث تندمج المادة الوراثية للفاج مــع المادة الوراثية للخلية البكتيرية · وعند تعريض هذه الخلايا لظــروف (حث induction) تؤدى الى تحول الفاج الأولى الى مرحلة التضاعف الخضري فان بعض جزيئات الفاج التى تتكون تحمل بعض الصفات الوراثيـة القريبة من موقع اتصال (اندماج) الفاج الأولى مع كروموسوم الخلية ·

اندماج المادة الوراثية الأجنبية مع المادة الوراثية الأصلية (الداخلية) :

فى كلا الحالتين السابقتين (الحمل العام والخاص للصفــات الوراثية بواسطة الفاج) فان المادة الوراثية الأجنبية (الخارجيــة) Exogenote القادمة من خارج الخلية غالبا ما تندمج مع المادة الوراثيـة الأصلية الداخلية (البكتيرية) Endogenote ··· وهذه المادة الوراثية الأجنبية قد تكون عبارة عن مادة وراثية بكتيرية قادمة من خلية معطيــة عن طريق فاجات النقل بالحمل العام للصفات الوراثية ، وقد تكون هــذه المادة الوراثية الأجنبية مكونة من مادة وراثية فيروسية متحدة بمادة وراثيـة بكتيرية كما سبق فى فاجات النقل بالحمل الخاص للصفات الوراثية ·

وعندما تندمج المادة الوراثية الخارجية exogenote مع المادة الوراثية الداخلية يتكون كروموسوم مختلط وراثيا Recombinant chromosome بواسطة العملية المعروفة باسم العبور الوراثى أو الاتصــال المزدوج Crossing over (شكل ١٨ـ١٣) فى أماكن متشابهة فى تسلســل القواعد على كلا المادتين الوراثيتين المندمجتين ، ويتكون زيجوت جزئى

partial zygote أو merozygote يلى ذلك انحلال degradation للمورثات غير العاملة ويتم تكوين وانعزال segregation لخلايا أحادية المجموعة الصبغية ذات صفات وراثية مختلطة Recombinant haploid .



شكل ١٨-١٣ : الخطوات الافتراضية لحدوث العبور الوراثى لجزيئين من الحمض النووى د ن أ

النقل بالحمل الاجهاضى للصفات الوراثية

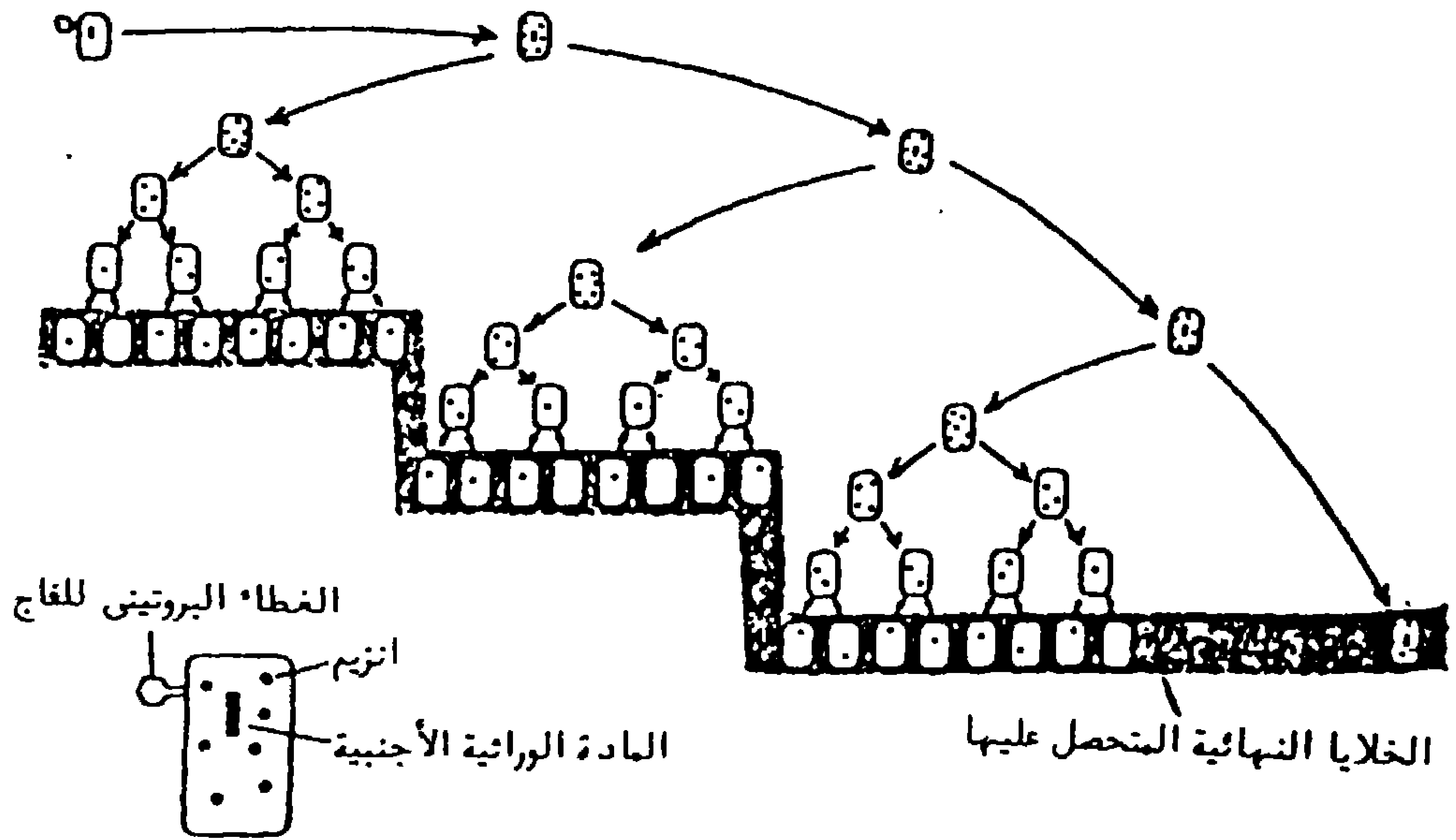
: Abortive transduction

فى كثير من الحالات تندمج المادة الوراثية الخارجية مع المادة الوراثية داخل الخلية البكتيرية مثل ما يحدث فى كلا من النقل بالحمل العام والخاص للصفات الوراثية ٠

ولكن في حالات قليلة لا تندمج المادة الوراثية الخارجية مع المادة الوراثية الداخلية ولا تتضاعف أيضا ولا تتحلل ، بل تبقى كجزيء دون أي حالة مستقلة Autonomous تعمل المورثات الموجودة فيه على سد النقص في مورثات الخلية المستقبلة . وعندما ينقسم الزيجوت الجزئي يعطي خليتين أختين daughter cells احداهما تحتوي المادة الوراثية الخارجية والثانية لا تحتوي على نسخة من هذه المادة الوراثية الخارجية . فاذا فرض أن المادة الوراثية الخارجية تحتوي على المورثات المسئولة عن بناء الحمض الأميني الهستدين (his^+) واستقبلت في خلية لا تستطيع بناء الهستدين (his^-) أو بمعنى آخر تكون مورثات الهستدين في المادة الوراثية الداخلية endogenote غير عاملة .

عند استقبال الخلية للمادة الوراثية الخارجية (المحتوية على مورثات الهستدين العاملة تصبح الخلية (his^+/his^- hetrozygous وثنائية المجموعة الصبغية بالنسبة لمورثات الهستدين ، وتبدأ في انتاج الانزيمات المسئولة عن بناء الهستدين وبذلك يمكنها النمو على مستنبت غذائي (بيئة medium) خالي من الهستدين ، وعند انقسامها فان احدى الخليتين الأختين لا تحتوي على نسخة من المادة الوراثية الأجنبية exogenote وهذه تنمو لفترة محدودة على ما بقي بها من انزيمات بناء الهستدين التي تسلمتها من الخلية الأم ثم تتوقف عن النمو ، أما الخلية الأختية الأخرى فهي تحتوي نسخة المادة الوراثية الأجنبية المحتوية على مورثات الهستدين العاملة ، وبذلك فهي تنمو طبيعيا على المستنبت الذي لا يحتوي على هستدين الى أن تنقسم ثانية وتتكرر هذه الدورة (شكل ١٨ــ١٤) .

ويكون نتيجة ذلك تكون مستعمرة صغيرة تنمو ببطء Slow growing minute colony والتي ترى بصعوبة بعد عدة أيام من النمو . وعند اعادة التخطيط restreaking من هذه المستعمرة على مستنبت خالي من الهستدين أيضا نحصل أيضا على مستعمرة صغيرة تنمو ببطء أيضا وترى بصعوبة بعد عدة أيام من النمو حيث أن خلية واحدة فقط هي التي



شكل ١٨ـ١٤ : الأحداث التى تتم فى النقل بالحمل الاجهاضى للصفات الوراثية

تحتوى على مورثات الهستدين وهى التى تنقسم باستمراره أما كل الخلايا الأختية الناتجة من الانقسامات فهى تنمو لفترة زمنية محدودة حتى ينتهى مخزونها من انزيمات بناء الهستدين ثم تتوقف حيث لا تستطيع تكوين انزيمات بناء هستدين بنفسها (شكل ١٨ـ١٤) ... وهذا ما يسمى بالنقل بالحمل الاجهاضى للصفات الوراثية Abortive transduction نظرا لأن حمل الصفات الوراثية يظل قاصرا على خلية واحدة، وهى الخلية التى تتسلم نسخة المادة الوراثية الأجنبية .

وبعض معلقات suspensions الفاج ينتج عنها عشرة أضعاف النقل الاجهاضى لمعلقات فاج أخرى . وينتج النقل بالحمل الاجهاضى للصفات الوراثية عندما يفشل حدوث اندماج بين المادة الوراثية الأجنبية والمادة الوراثية (الأصلية) الداخلية . ويمكن التغلب على هذا الفشل بالمعاملة بالأشعة فوق البنفسجية UV light للخلايا التى نقل اليها نسخة المادة الوراثية الخارجية (التى تكون المستعمرات الصغيرة

بطيئة النمو) • وقدرة الأشعة فوق البنفسجية على تحويل النقل الاجهاض للصفات الوراثية الى نقل وراثى عادى للصفات الوراثية يرجع الى قدرة هذه الأشعة على تنشيط stimulation حدوث عمليات الاندماج أو الاتصال المزدوج recombination فى عدد من الأنظمة مزدوجة المجموعة الكروموسومية •

التحويل الفاجى Phage conversion

يتم التحكم فى عدد من الصفات الخلوية البكتيرية بواسطة مورثات فاج فقط ، لذلك فهذه الصفات البكتيرية لا تتكون الا فى الخلايا ذات القدرة الكامنه على التحلل Lysogenic cells أو الخلايا المحتوية على نسخة من المادة الوراثية الفيروسية • ولا تتكون هذه الصفة الخلوية البكتيرية أبدا فى الخلية الخالية من نسخة المادة الوراثية للفاج Phage free strain • وعلى سبيل المثال فان بكتيريا الدفتيريا المعروفة باسم Corynebacterium dephtheria تنتج المادة سامة toxin فقط عندما تحتوى على نسخة من المادة وراثية لفاج خاص بها ، فكل خلية تحتوى على نسخة من المادة الوراثية للفاج تنتج المادة السام. أما الخلايا الخالية من المادة الوراثية للفاج فهى لا تنتج المادة السامة ، كما لا يمكن تطفيرها لاكسابها القدرة على انتاج المادة السامة • وبالمثل أيضا فان بعض المكونات الأنتجينية الموجودة فى الجدار الخلوى لبكتيريا السالمونيللا Salmonella تنتج فقط فى الخلايا التى تحتوى على نسخة من المادة الوراثية لفاج خاص بهذه البكتيريا ••• وتغيب هذه المكونات الأنتجينية من جدار الخلية فى غياب نسخة المادة الوراثية للفاج من الخلية • ويسمى اكتساب الخلية البكتيرية لصفات خاصة ناتجة عن مورثات فيروسية باسم التحول الفاجى Phage conversion ••• ويختلف التحول الفاجى عن النقل الخاص للصفات الوراثية بالفاج ، فالتحول الفاجى يتم بواسطة مورثات فيروسية موجودة على المادة الوراثية الفيروسية لفيروس عادى تماما لا ينقصه شيء • أما النقل بالحمل الخاص للصفات الوراثية

بالفاج فهو يتم بواسطة مورثات بكتيرية منقولة أصلا من خلية أخرى ، كما أن هذه المورثات البكتيرية تكون مرتبطة بمادة وراثية فيروسية ناقصة (غير كاملة) ولا تستطيع اكمال دورة التحلل lytic cycle عند وجودها بمفردها فى الخلية ٠

من المعلومات السابقة ... يمكن بسهولة القاء الضوء على عملية التطور على أساس أن كلا من كروموسوم البكتيريا والفاج قد نتجا عن أصل مشترك Common ancestor فقدرة مورثات بكتيرية على احلال محل مورثات فيروسية والعكس يعطى انطباعا عن وجود علاقة قوية بين البكتيريا وفيروساتها ٠

العلاقة التطورية بين البلازميدات والفيروسات والكروموسومات البكتيرية

Phylogenetic relationship between plasmids, viruses and chromosomes

ان المادة الوراثية لكلا من الفيروسات والكروموسومات البكتيرية معروفة الآن للقارئ _ أما البلازميدات فهى تتصف بالصفات التالية :

١_ هى عبارة عن جزيئات من الحمض النووى د ن أ حلقى مزدوج السلسلة
٢_ لها القدرة على التضاعف مستقلة فى الخلية العائل ٠
٣_ بعضها ذو قدرة على الاندماج مع كروموسوم الخلية العائل أو الاندماج مع بعضها البعض. كما أن بعضها يتبادل الصفات الوراثية مع بعضها الآخر أو مع كروموسوم الخلية ٠

البلازميدات: هى عناصر وراثية غير كروموسومية مكونة من الحمض النووي د ن أ _ مزدوج السلسلة توجد فى سيتوبلازم بعض أجناس البكتيريا وقد تندمج مع الكروموسوم وقد تبقى فى صورة مستقلة عنه ٠ وهى تتحكم فى عدد من الوظائف الخلوية أهمها مقاومة المضادات الحيوية المختلفة أو انتاج مواد سامة Toxins. ومن البلازميدات الشهيرة عامل المقاومة Resistance factor R factor وعامل الخصوبة أو الذكورة Fertility factor أو F. Factor sexfactor وبعض البلازميدات قابلة للانتقال من خلية الى خلية خلال عمليات التزاوج فى البكتيريا بمرورها فى الزوائد الجنسية sex pili مثل عامل الخصوبة F factor كما سبق الاشارة اليه فى الفصل التاسع.

٤- عدد من البلازميدات تكسب الخلايا العائل صفات وراثية ملموسة .

٥- بعض البلازميدات - وليس كلها - له القدرة على الانتقال من خلية الى خلية بكتيرية أخرى داخل الزوائد الجنسية sex pili خلال عملية التزاوج Cell conjugation.

٦- البلازميدات ذات القدرة على الانتقال Transmissible قد تنقل معها بلازميدات أخرى أو أجزاء من كروموسوم الخلية اذا كانت مندمجة معها الى خلية أخرى كما فى حالة تزاوج الخلايا ذات القدرة العالية على تكوين الخلطات الوراثية High frequency recom-binant cells

٧- البلازميدات غير أساسية dispensable للخلية - على الأقل تحت بعض الظروف من هذه الصفات المذكورة - تنطبق الأربع الأولى على كروموسومات الخلايا .

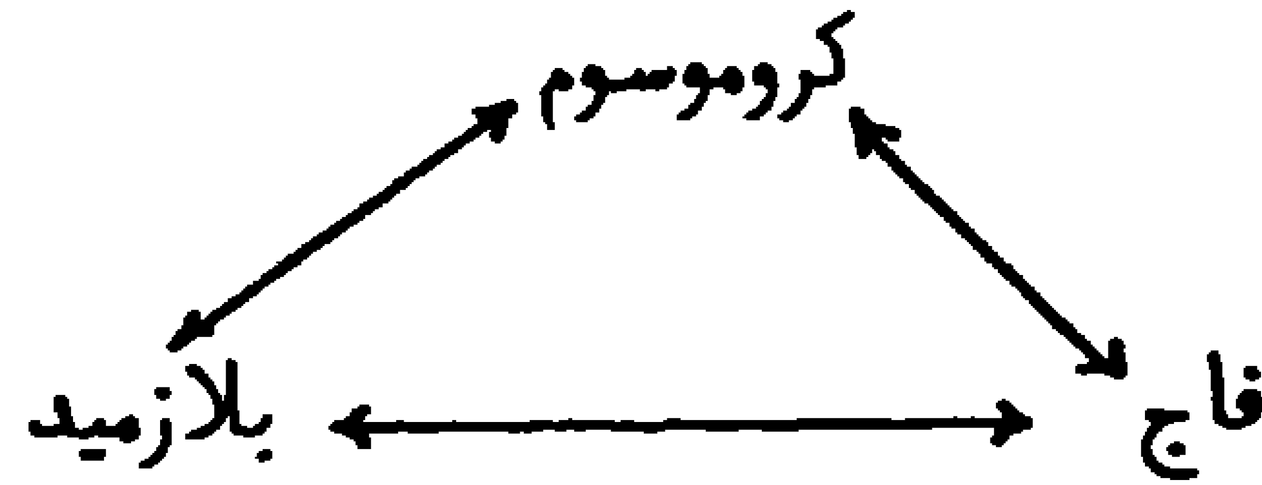
لذلك ... فالعلاقة بين البلازميدات والكروموسومات البكتيرية قوية ، وكذلك العلاقة بين الفاج المحتوى على الحمض النووى د ن أ والبلازميدات هى علاقة قوية أيضا ... حيث أن المادة الوراثية للفاج والبلازميدات تشترك فى كل الصفات السابقة ما عدا الانتقال خلال الزوائد الجنسية أثناء التزاوج * Conjugation.

وتختلف الفاجات عن البلازميدات فى قدرتها على تحرير نفسها من الخلية العائل بعد تغطية نفسها بغطاء بروتينى (فيريونات) . ويعتقد بعض العلماء أن البلازميدات ذات القدرة على الانتقال من خلية الى أخرى قريبة الصلة جدا لبعض الفاجات الخيطية filamentous والمحتويةعلى الحمض النووى د ن أ .فالزائدة الجنسية التى يمربها البلازميد

---

* بعض الفاجات التى تصيب البكتيريا Pseudomonas تستطيع نقل صفات وراثية كروموسومية خلال عملية التزاوج فى البكتيريا ، مثلها فى ذلك مثل عامل الخصوبة F factor وحيث أن بعض البكتيريا تحتوى على عامل الخصوبة فان القدرة الخاصة لهذا الفاج فى نقل صفات وراثية أثناء تزاوج البكتيريا قد تكون مكتسبة من عامل الخصوبة لهذه البكتيريا بعد تكوين خلطة وراثية genetic recombinant بينهما .

أثناء التزاوج تمثل الغطاء البروتينى للفاج الذى يستخدم لحقـــــن الحمض النووى فى الخـلايا عند غزوها بالفاج • وهذا يعطى انطباعـــا بوجود علاقة قوية بين البلازميدات والفاجات والكروموسومات البكتيريـــة ، ويمكن تمثيل العلاقة التطورية بين هذه المكونات الوراثية الثلاثة بالشكـــل التالى :



نظرا لقدرتهم على تكوين خلطات وراثية Genetic recombinant مع بعضها البعض••

فكثير من الفاجات والبلازميدات يمكنها الاندماج مع الكروموســـوم البكتيرى ، كما انه تم اكتشاف اندماج بين أحد البلازميدات(عامـــل مقاومة R Factor) مع المادة الوراثية لأحد الفاجات ، وينتج عـــن ذلك فاج يحمل المورثات الموجودة فى عامل المقاومة فيكسب البكتيريـــا مقاومة لعدد من المضادات الحيوية •

وبذلك يمكن النظر الى الثلاث مكونات على أنهم يمكن تحويـــل أيا منهم للآخر — فالمادة الوراثية للفاج بعد فقد مورثات معينة يتحـــول الى بلازميد ، والبلازميد بعد اكتساب مورثات خاصة قد يتحول الى فـاج ، كما أن البلازميد قد يتحول الى كروموسوم اذا اكتسب مورثات خاصـــة أيضا • ولكن المشكلة تظهر فقط فى تحديد أيهما نتج عن الآخر ••• هـــل البلازميد نتج عن الفاج ؟ أو العكس؟ أو انها كلها نشأت فى خطـــوط تطورية منفصلة من الكروموسوم ؟ أو هل الكروموسوم نتج من اندماج فـــاج وبلازميدات؟

ولكنه من السهل تصور تكون البلازميدات — وخاصة غير المنتقلـــة منها — من الكروموسوم بواسطة عمليات حذف deletion أو اقتطـــاع من الكروموسوم •

الفصل التاسع عشر

وراثة الأحياء الدقيقة بدائية النواة وبيولوجيتها الجزيئية

ميكانيكية حدوث النقل بالحمل الخاص للصفات الوراثية بالفاج

Genetic Recombination in Procaryotes

أثناء التطور لا يقتصر الانتخاب الطبيعي على طفرة أو طفرات في مورث Gene واحد ولكن الاحتمال الأكثر واقعية هو تكوين خلطة وراثية جديدة نتيجة لتبادل عدد من المورثات بين خليتين أبويتين مختلفتين لانتاج خلايا بنوية جديدة ذات صفات تتلائم مع ظروف الانتخاب الطبيعي وميكانيكية تكوين هذه الخلطة الوراثية الجديدة هي ما يعرف باسم الخلط الوراثي أو التبادل الوراثي Genetic recombination وعلى المستوى الجزيئي فان الخلط أو التبادل الوراثي هو العملية التي يتم بموجبها تكوين صبغية (كروموسوم) Chromosome مكون من حمض نووي دنأ مصدره خليتين مختلفتين .

ويتكون مثل ذلك الكروموسوم في الأحياء ذات النواة البدائية بأي واحد من ثلاث طرق مختلفة هي :

١ـ نقل مباشر للحمض النووي دنأ Transformation
٢ـ نقل الحمض النووي دنأ بالتزاوج Conjugation
٣ـ نقل الحمض النووي دنأ بالحمل بالفاج Transduction

وتختلف العمليات الثلاث السابقة الذكر عن العملية الجنسية في الأحياء ذات النواة الحقيقية والتي ينتج عنها اندماج حقيقي للجاميطات المذكرة والمؤنثة Gametes ... وبدلا من ذلك ففي الأحياء ذات النواة البدائية ينتقل جزء فقط من المادة الوراثية للخلية المعطية Donor الى الخلية المستقبلة Receipient ... وبذلك تصبح الخلية المستقبلة عبارة عن زيجوت جزئي Partial zygote وأحيانا يسمى شبه زيجوت Merozygote .

وتسمى المادة الوراثية للخلية المستقبلة باسم المادة الوراثيـــة الداخلية Endogenote أما قطع الحمض النووى د ن أ التى تصل الــى الخلية المستقبلة من خارجها فتسمى المادة الوراثية الأجنبية Exogenote. وتختلف طبيعة وحجم المادة الوراثية الأجنبية فى كل من عمليات الخلــط الوراثى الثلاث السابقة الذكر ٠

ففى النقل المباشر Transformation للحمض النووى د ن أ تفــرز الخلايا المعطية Donor قطع صغيرة مختلفة الأطوال من الحمــض النووى د ن أ مزدوج السلسلة فى الوسط المحيط ٠ وهذه القطع تمتز الــى سطح الخلايا المستقبلة ثم تدخل الى داخل الخلايا المستقبلة بالآليـة غير المعروفة حتى الآن ، وعند وصولها الى داخل الخلية تكون احــدى سلسلتى الحمض النووى د ن أ للمادة الوراثية الأجنبية قد تحللت ويبقــى منها سلسلة واحدة فقط ٠

أما فى التزاوج Conjugation فان احدى سلسلتى الحمض النووى للخلية المعطية تفتــح وتبدأ فى الانتقال عبر الزائدة الجنسية مــــن الخلية المعطية الى الخلية المستقبلة (اللذان يكونان فى حالة اتصــال جنسى بواسطة الزوائد الجنسية) ٠ ويختلف طول القطعة المنقولة مــن الحمض النووى د ن أ الأجنبى على حسب مدة بقاء الاتصال الجنسى ٠ فاذا انقطع الاتصال الجنسى بعد فترة زمنية قصيرة فان قطعة صغيرة فقـــط من المادة الوراثية الأجنبية تنتقل الى الخلية المستقبلة ، أما اذا كانــت مدة الاتصال الجنسى طويلة فيزيد طول قطعة المادة الوراثية الأجنبيـة المنقولة الى الخلايا المستقبلة ٠ وقد دلت الدراسات على أن استمـــرار الاتصال الجنسى دون انقطاع لمدة ٩٠ دقيقة يؤدي الى انتقال نسخـة كاملة من كروموسوم بكتيريا القولون ٠

أما فى نقل الحمض النووى د ن أ بالحمل بالفاج Transduction فان قطعة صغيرة من الحمض النووى د ن أ مزدوج السلسلة (المادة الوراثيــة الأجنبية) يتم احضارها من الخلية المعطية الى الخلية المستقبلة بواسطة فاج (فيروس بكتيري) ٠ وقد تكون هذه القطعة من المادة الوراثيـــــة

الأجنبية عبارة عن حمض نووى د ن أ بكتيري فقط أو تكون حمض نووى د ن أ - بكتيري متصل بالحمض النووى د ن أ الفيروسى .

وقبل مناقشة كل عملية على حدة يلزم توضيح الخطوات التى تلى دخول المادة الوراثية الأجنبية الى داخل الخلية المستقبلة .

(١) اذا كانت المادة الوراثية الأجنبية التى وصلت الخلية المستقبلة تحتوى عدد من القواعد النيتروجينية مرتبة فى ترتيب مماثل لتلك القواعد على المادة الوراثية الداخلية للخلية المستقبلة ، فانه سريعا ما يحدث ازدواج Pairing بين المادتين الوراثيتين الداخلية والأجنبية ويتكون كروموسوم مخلوط ناتج عن اندماج جزء أو كل المادة الوراثية الأجنبية مع المادة الوراثية الأصلية .

(٢) اذا وجدت عوائق تمنع اندماج المادة الوراثية الأجنبية مع المادة الوراثية الداخلية للخلية المستقبلة مثل عدم توفر ترتيبات متماثلة من القواعد على كلا المادتين الوراثيتين الأجنبية والداخلية أو غيرها من الأسباب فان المادة الوراثية الأجنبية تسلك أحد المسالك التالية :

أ- اذا كانت المادة الوراثية الأجنبية تحمل المورثات Genes المسئولة عن تضاعف Replication نفسها فان هذه المادة الوراثية الأجنبية قد تتضاعف وينتج الزيجوت الجزيئى المتكون فى الخلية المستقبلة تكون مستعمرة من خلايا مزدوجة المجموعة الكروموسومية (الصبغية) بدرجة جزيئية Partial diploid بمعنى أن عددا محدودا فقط من المورثات يكون مزدوجا بينما تكون باقى المورثات مفردة . وقد لوحظت مثل تلك الحالات فى بعض حالات نقل د ن أ بالتزاوج Conjugation أو بالحمل بالفاج Transduction .

ب- اذا لم تحمل المادة الوراثية الأجنبية المورثات المسئولة عن تضاعف نفسها فان هذه المادة الوراثية الأجنبية قد تستمر فى الخلية دون تضاعف وينتج عن هذه الخلية المستقبلة مستعمرة تكون كل خلاياها

أحادية المجموعة الكروموسومية (الصبغية) Haploid فيما عدا خلية واحدة فقط تكون مزدوجة المجموعة الكروموسومية (الصبغية) بدرجة جزئية Partial diploid وتعرف هذه الحالة باسم نقل المادة الوراثية بالحمل الاجهاضي بالفاج واذا كانت المورثات Genes على المادة الوراثية الأجنبية في هذه الحالة أساسية للنمو فان النمو يكون بطيئا جدا عادة وتتكون مستعمرات صغيرة جدا ، حيث أن مورثا Gene واحدا في المستعمرة كلها هو الذي يوجد على المادة الوراثية الأجنبية التي لا تتضاعف ولا تندمج مع الكروموسوم الخلوى ، وقد تمت الاشارة الى ذلك عند مناقشة ميكانيكية حدوث النقل بالحمل بالفاج فيما سبق ٠

جـ ـ قد تتحلل المادة الوراثية الأجنبية بالانزيمات الخلوية ، وتعرف هذه الظاهرة باسم ظاهرة الاقصاء Restriction وقد سبق الاشارة الى ظاهرتى الاقصاء والتعديل بعد مناقشة دورة تضاعف الفاج المحتوى على الحمض النووى د ن أ الحلقى المزدوج السلسلة ٠

وقد سبق مناقشة النقل بالحمل العام والخاص والاجهاضى للصفات الوراثية في الفصل الخاص بوراثة الفاجات وبيولوجيتها الجزيئية وسنتناقش هنا النقل المباشر Transformation والنقل بالتزاوج Conjugation للمادة الوراثية الأجنبية ٠

أولا: النقل المباشر للمادة الوراثية الأجنبية فى البكتيريا :

Bacterial Transformation

اكتشفت ظاهرة النقل المباشر للمادة الوراثية Transformation فى البكتيريا Streptococcus pneumoniae والتى تسمى أحيانا Pneumoc-occus بسبب ما تسببه من مرض الالتهاب الرئوى Pneumonia ، والمصابين بهذا المرض يوجد فى لعابهم أو أنسجتهم هذه البكتيريا محاطة بكبسولة Capsule كبيرة من عديدات التسكر Polysaccharides ٠ وعند تنمية هذه البكتيريا ذات الكبسولة على مستنبتات صلبة تتكون مستعمرات ناعمة Smooth ويرمز لها بالرمز S وهذه البكتيريا يمكن تقسيمها الى عدة

أقسام Types وفقا للاختلافات فى التركيب الكيميائى لمادة الكبسولة فى كل منها ، والأقسام المختلفة من هذه البكتيريا تأخذ الأرقام I, II, III وهكذا يمكن التمييز بينها بالطرق المناعية الكيميائية ...

عند زرع خلايا ذات كبسولة S على الآجار فانه تتكون مستعمرات ناعمة بصفة عامة ، ولكن عادة تظهر مستعمرات ذات مظهر خشن Rough ويرمز لها بالرمز R وخلايا هذه المستعمرات الخشنة تكون بدون كبسولة ، وهى ليست ضارية ، بمعنى أنها لا تسبب حدوث المرض ، وذلك على عكس البكتيريا ذات الكبسولة S والتى تسبب حدوث المرض بوضوح . وفى عام ١٩٢٨ لاحظ جريفث Griffith انه عند حقن عدد كبير من خلايا R تكونت من خلايا حية قسم I فقدت القدرة على بناء الكبسولة مضافا اليها خلايا S قسم II سبق قتلها بالحرارة فى فئران التجارب. ورغم أن كلا النوعين من الخلايا المحقونة لا يسبب الموت اذا حقن منفصلا عن الآخر ، فقد لاحظ جريفث أن الفئران المحقونة بكلاهما معا يموتون نتيجة الاصابة بالمرض . وعند أخذ عينات من دم الفئران الميتة وفحصها وجد أن الدم يحتوى على خلايا ذات كبسولة S من قسم II فقط.

واستنتج من ذلك أن الخلايا الميتة أنتجت المادة الوراثية التى تحمل الصفات الوراثية للكبسولة الخاصة بقسم II وأن هذه المادة الوراثية امتصت بواسطة الخلايا R فأصبحت قادرة على انتاج كبسولة من نوع II. من ذلك يلاحظ أن الخلية المعطية لا يجب أن تكون حية . بل ثبت بعد ذلك أنه يمكن احداث النقل المباشر Transformation للمادة الوراثية باستعمال مستخلص الخلايا Cell-free extract . وفى عام ١٩٤٤ تمكن Avery and Macleod and McCarty من عزل تلك المادة الوراثية التى تحمل الصفات الوراثية من الخلايا المعطية الى الخلايا المستقبلة ، وبعد دراستها تبين أنها الحمض النووى د ن أ DNA وفى نفس العام تقريبا تم اكتشاف حدوث هذه الظاهرة فى بعض الأفراد التابعة لأجناس Hemophilus, Neisseria, Bacillus ولكن العديد من المحاولات فشلت فى اثبات حدوث هذه الظاهرة فى العديد من البكتيريا . أما حدوث النقل المباشر للمادة الوراثية فى بكتيريا القولون <u>E. coli</u> K12

فلم يثبت الا بعد محاولات عديدة فاشلة ، وأمكن اثباته فقط فى ظروف خاصة من وجود تركيزات مرتفعة من أيونات الكالسيوم ، ورغم أن الخلايا المستقبلة تستطيع استقبال قطع من الحمض النووى تصل الى ١ × ١٠ ^٧^ دالتون (٣ر٪ من كروموسوم الخلية المعطية) الا أن آلية دخول هذه القطع الى الخلية المستقبلة مازالت غير مفهومة تماما . كما أنه ـ عادة ـ يصعب اثبات دخول أكثر من مورث Gene واحد أو مورثين ، الا أن حجم القطعة التى تدخل الى الخلية المستقبلة قد تحمل حوالى (١٥) خمسة عشرة مورثا .

وحيث أن النقل المباشر للصفات الوراثية يحدث بمعدل منخفض فانه من الضروري استعمال علامات (مورثات) مختارة Selective markers بمعنى أن الحمض النووى د ن أ الناتج عن الخلية المعطية يجب أن يحتوى على صفات وراثية يمكن تمييزها فى الخلايا المستقبلة المختلطة وانتخابها Selected فى وجود عدد كبير من الخلايا الحية المستقبلة . ويمكن اعادة الاعتماد على العلامات الوراثية المسئولة عن المقاومة للمضادات الحيوية أو عدم اعتماد السلالات البكتيرية على وجود عناصر غذائية معينة فى الوسط الغذائى . وعلى سبيل المثال اذا كان لدينا مزرعة من خلايا مستقبلة حساسة للمضاد الحيوى ستربتومايسين مثلا ومزرعة من خلايا معطية مقاومة للاستربتومايسين فان قتل الخلايا المعطية أو استخلاص الحمض النووى د ن أ الخاص بها وخلطه مع الخلايا المستقبلة ثم زرعها على وسط غذائى يحتوى على الاستربتومايسين يسمح بانتخاب الخلايا التى حصلت على المورثات المسئولة عن مقاومة هذا المضاد الحيوى ، ويقال عن مورثات الاستربتومايسين فى هذه الحالة أنها علامات (مورثات) انتخابية Selective markers . وبالمثل اذا كانت مزرعة الخلايا المستقبلة تحتاج الحمض الأمينى أرجنين للنمو . وكانت مزرعة الخلايا المعطية تستطيع بناء هذا الحمض الأمينى بنفسها (أى لا تحتاج للحمض الأمينى أرجنين لكى تنمو) فانه يمكن تقدير حدوث الانتقال المباشر Transformation بعد خلط الحمض النووى د ن أ للخلايا المعطية مع الخلايا المستقبلة ثم زرعها على مستنبت لا يحتوى على الأرجنين .

تحتاج البكتيريا من أجناس Streptococcus ، Hemophilus ، Neisseria الى مستنبتات معقدة التركيب لنموها ، لذلك فانه من الصعوبة بمكان أن تكون طريقة اختيار السلالات البكتيرية مبنية على عدم اعتماد السلالات على وجود عناصر غذائية معينة في الوسط الغذائي كطريقة لاثبات الانتقال المباشر للمادة الوراثية _ أما البكتيريا Bacillus subtilis . فلا تتطلب عوامل نمو خاصة ، ويمكنها النمو على مستنبت بسيط Minimal medium مناسب يحتوي على مصدر مناسب للكربون والطاقة ، أما باقي العناصر الغذائية الأخرى فيمكن الحصول عليها من أملاح غير عضوية ، وقد أمكن عزل العديد من السلالات التي تتطلب احتياجات غذائية مختلفة من تلك البكتيريا . وقد أمكن اثبات حدوث النقل المباشر في هذه البكتيريا بخلط الحمض النووى د ن أ للبكتيريا البرية Wild type (والتى لا تحتاج لأى عوامل نمو) مع أى سلالة من السلالات التى تحتاج الى عناصر غذائية مختلفة وزرعها بعد ذلك على مستنبت بسيط لا يحتوى على أى عوامل نمو . والمستعمرات الناتجة تكون خلايا حدث بها نقل مباشر للحمض النووى د ن أ .

احداث النقل المباشر Transformation process للمادة الوراثية البكتيرية

العامل المحدد فى معدل حدوث النقل المباشر فى خلايا مزرعة معينة يعتمد على قدرة Competence الخلايا المستقبلة على استقبال قطع الحمض النووى د ن أ . وهذه القدرة Competence هى تعبير عن الحالة الفسيولوجية للخلية ، وهى تختلف كثيرا من وقت لآخر أثناء دورة حياة الخلية . والمعلومات عن حالة القدرة تلك ما زالت محدودة ، ولكنه من المعروف أن الخلايا القادرة Competent Cells (التى لديها القدرة Competence) تفرز بروتينا يمكن عزله من الوسط الذى تعيش فيه . وهذا البروتين عند اضافته لخلايا غير قادرة فانها تكتسب صفة القدرة Competence على استقبال قطع المادة الوراثية بالنقل المباشر Transformation. وهذا البروتين اما أن يكون أحد مكونات الغشاء الخلوى أو يكون عاملا مساعدا لدخول الحمض النووى

دنأ الى داخل الخلية . أو يكون هذا البروتين عبارة عن أنزيم يقوم بتحليل أماكن معينة فى الغشاء الخلوى ليسمح بدخول الحمض النووى دنأ الى داخل الخلية .

وقد درست عملية دخول الحمض النووى دنأ الى داخل الخلية دراسة مستفيضة فى بكتيريا Pneumococci (Streptococcus pneumonia) ... وأمكن تقسيم هذه العملية الى ثلاث مراحل فى هذه البكتيريا الموجبة لصبغة جرام هى :

(١) فى المرحلة الأولى ترتبط قطع الحمض النووى دنأ بمواقع معينة أثناء فترة القدرة Competence الخلوية على استقبال الحمض النووى . وفى هذه المرحلة يلزم توفر مركب الكولين Choline (وهو أحد مكونات الغشاء الخلوى) ...

والمعروف أن هذه البكتيريا قد تأخذ الحمض النووى دنأ لأحياء أخرى بما فى ذلك الحيوانات الراقية . ولكن حدوث ادماج للمادتين الوراثيتين الداخلية والأجنبية لا يتم الا فى وجود درجة عالية من التشابه فى تسلسل القواعد بين المادتين الوراثيتين الخارجية والأجنبية .

(٢) فى المرحلة الثانية يتحلل الحمض النووى الأجنبى انزيميا والمرتبط مع الغشاء الخلوى من الخارج الى عدة أجزاء ، ويتراوح متوسط الوزن الجزيئى للقطع الناتجة من ٤ الى ٥ × $١٠^{٦}$.

(٣) فى المرحلة الأخيرة تدخل قطع الحمض النووى دنأ الناتجة الى داخل الخلية وأثناء عبورها للغشاء الخلوى تتحلل احدى السلسلتين ويصل الى داخل الخلية سلسلة مفردة للحمض النووى دنأ وهذه الخطوة يصحبها استهلاك طاقة ، والطاقة اللازمة للمرحلة الثالثة تأتى من تحلل جزيئات ATP الغنية فى الطاقة .

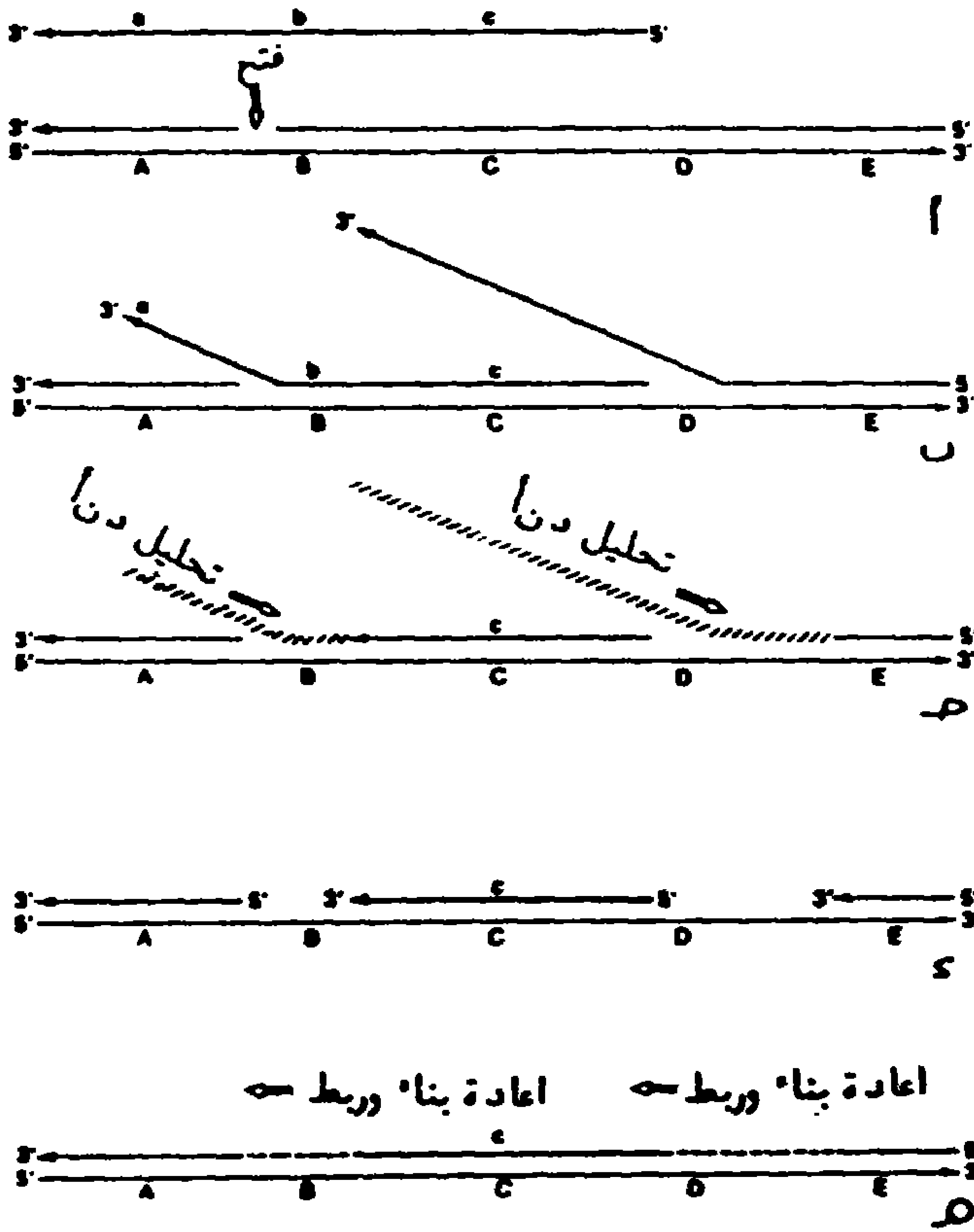
وقد لوحظ أن قطع الحمض النووى دنأ التى لها وزن جزيئى أصغر من ٥ × $١٠^{٥}$ لا تأخذها الخلايا .

أما فى البكتيريا السالبة لصبغة جرام مثل Hemophilus influenza فان هناك تشابها كبيرا مع ما سبق شرحه فى البكتيريا الموجبة لصبغة جرام · فقد لوحظ أن الخلايا القادرة Competent cells لا تأخذ الا الحمض النووى ذو ترتيب القواعد المشابهة Homologous لترتيب القواعد على مادتها الوراثية · كما أن تحول الحمض النووى مزدوج السلسلة الى مفرد السلسلة يحدث فى نفس الوقت أثناء اندماج الحمضين النوويين الداخلى والأجنبى · كما ثبت أيضا أن مركب الأدينوزين أحادي الفوسفات الحلقى Cyclic AMP يلعب دورا هاما فى زيادة قدرة الخلايا على استقبال المادة الوراثية · ففى وجوده تزيد الخلايا التى تكتسب القدرة Competence عشرة آلاف مرة ·

ويلى دخول المادة الوراثية الأجنبية Exogenote حدوث اندماج مع المادة الوراثية الداخلية Endogenote للخلية · ويأتى حدوث هذا الاندماج سريعا ، فاذا كانت المادة الوراثية الداخلية تحمل علامتين (مورثين) وراثيين Genetic markers متقاربين $A^- B^+$ وكانت المادة الوراثية الأجنبية تحمل العلامتين الوراثيتين $A^+ B^-$ (وضع علامة زائد فوق أى علامة وراثية يعنى أنها السلالة البرية بمعنى أن هذا المورث يعمل عاديا كما فى السلالة البرية · أما وضع علامة ناقص فوق أى علامة وراثية فانها تعنى أن هذا المورث قد حدثت به طفرة فأصبح مورثا غير عامل) فانه يمكن بعد فترة قصيرة استخلاص قطع دنا تحمل العلامتين الوراثيتين $A^+ B^+$ شكل (١٩ــ١) · ويتكون $A^+ B^+$ بزيادة مستمرة فى خط مستقيم بمرور الوقت وبدون أى فترة تحضيرية Lag ويصل الى نصف مستوى الحد الأقصى فى خلال ست دقائق فقط ، وتتم هذه العملية بدون أى تضاعف للحمض النووى الأصلى الداخلى ·

ويلعب النقل المباشر للمادة الوراثية بين البكتيريا دورا لا بأس به فى تطور واختلاف أنواع البكتيريا ·

شكل ١٩ــ١ : تكامل د ن أ وحيد السلسلة الأجنبى مع د ن أ مزدوج السلسلـــة الداخلى .



أ ــ د ن أ وحيد السلسلـــة يحمل المورثات abc يقتـــرب من د ن أ مزدوج السلسلـــة يحمل نفس المورثات ABCDE ويحدث كسر (فتح) لاحـدى السلسلتين بين B ، A .

ب ــ تنفك احدى السلسلتين من السلسلة الأخرى لتسمح بتكوين سلسلة مزدوجة مع د ن أ الأجنبى وحيد السلسلـــة.

جـ،د : انزيمات محللـــة للحمض النووى د ن أ تقـــوم بازالة الأجزاء الزائدة مـــن الحمض النووى ثم تقوم انزيمـــا بناء الحمض النووى د ن أ باستكمال الأجزاء الناقصـــة وربطها ببعضها فتصبـــح احدى السلسلتين حاملـــة للمورثات ABCDE والسلسلة الأخرى ABcDE .

ثانيا : التزاوج البكتيرى : Bacterial Conjugation

أدى اكتشاف النقل المباشر للمادة الوراثية البكتيرية الى اكتشاف الخلط (التبادل) الوراثى فى البكتيريا وبدأ البحث عن حدوث عمليات جنسية تشبه ما يحدث فى الأحياء ذات النواة الحقيقية . وفى عام ١٩٤٦ م قام العالمان لدربرج وتاتم J. Lederberg & E.L.Tatum باجراء تجربة لاثبات حدوث الخلط الوراثى فى بكتيريا القولون E. coli. بالتزاوج Conjugation.

فالمعروف أن السلالة البرية من بكتيريا القولون E. coli K12 لا تحتاج لأى عوامل نمو وتستطيع أن تنمو على وسط غذائى (مستنبت الحد الأدنى الغذائى Minimal medium) يحتوى على جميع الاحتياجات الخلوية فى صورة معدنية + جلوكوز كمصدر وحيد للطاقة والكربون . ويمكن بعمليات التطفر التى سبق شرحها بالتفصيل عزل عدد من السلالات من هذه البكتيريا ، وكل سلالة تكون ذات احتياجات خاصة من عوامل النمو المختلفة . وقد تمكن هذان العالمان من عزل طفرتين من هذه البكتيريا . الطفرة الأولى كانت تحتاج الى الفيتامين بيوتين Biotin ويرمز له بالرمز (Bio) وتحتاج أيضا للحمض الأمينى ميثونين Methionine ويرمز له بالرمز Met أما الطفرة الثانية فكانت تحتاج لعاملى النمو الحمض الأمينى ثريونين Threonine ويرمز له بالرمز Thr والحمض الأمينى ليوسين Leucine ويرمز له بالرمز Leu . وتسهيلا للكتابة فالصفة البرية تميز بالعلامة (+) وتعنى أن المورث Gene جيد ويقوم بوظائفة وتستطيع الخلية بناء المركبات المميزة بالعلامة (+) وبالتالى لا تحتاجها فى وسط النمو ، والطفرة تميز بالعلامة (-) وتعنى أن المورث أصبح غير عامل وتحتاج الخلية لهذا المركب فى المستنبت حتى تستطيع النمو ، وعلى ذلك تكون الطفرة الأولى تكون $bio^- \ met^- \ thr^+ \ leu^+$ (الخلية الأبوية الأولى) والطفرة الثانية تكون $bio^+ \ met^+ \ thr^- \ leu^-$ (الخلية الأبوية الثانية) .

وقد خلطا 10^8 خلية من كلا الأبوين (الطفرتين المذكورتين) ثم الزرع على أطباق بترى تحتوى على مستنبت بسيط Minimal medium يحتوى الجلوكوز كمصدر وحيد للكربون والطاقة ، وبقية الاحتياجات الأخرى في صورة غير عضوية وبدون اضافة أى عامل نمو (بدون اضافة بيوتين ـ ميثونين ـ ثريونين ـ ليوسين) .

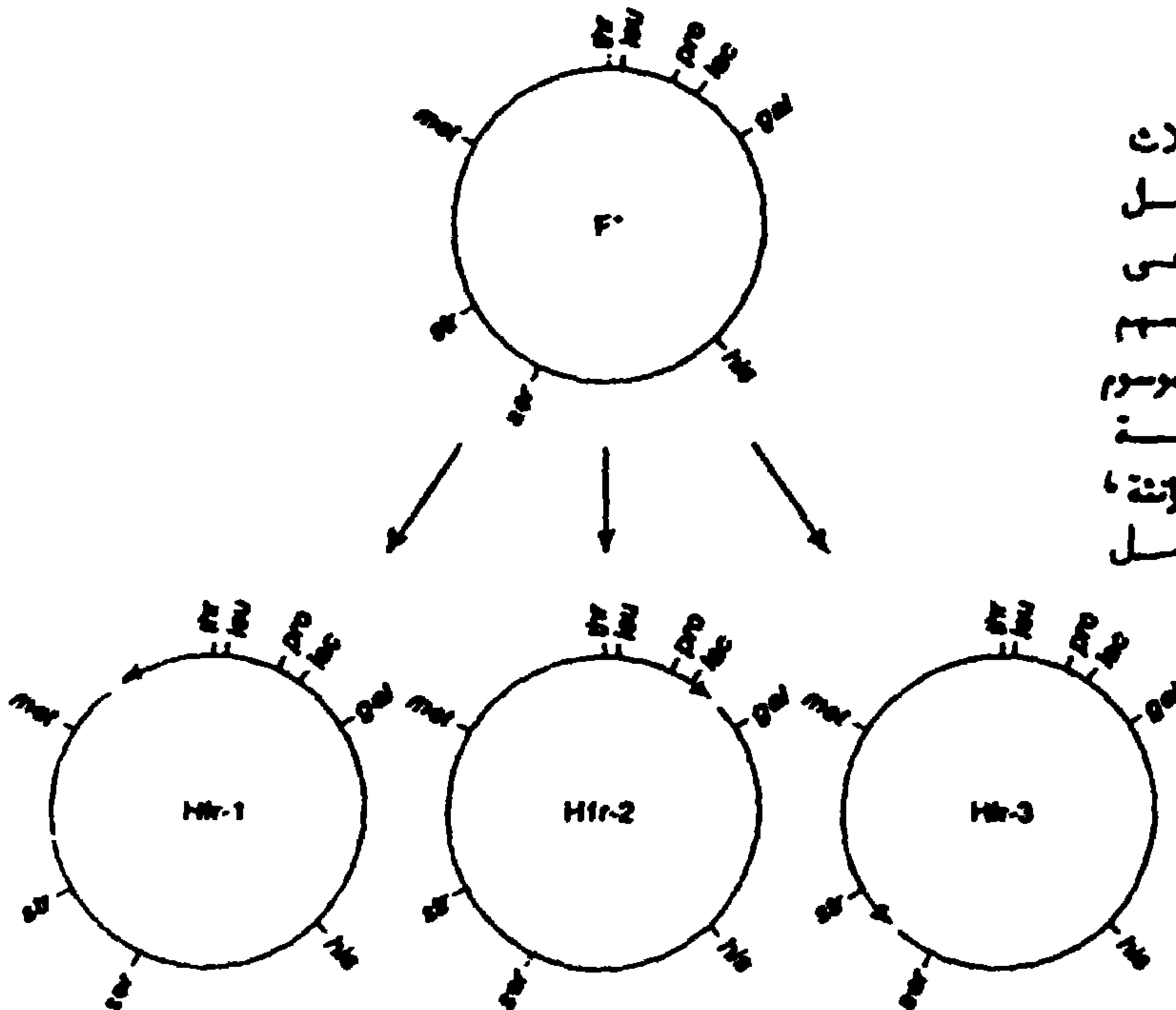
وبالرغم من عدم قدرة كلا الطفرتين على النمو على مثل هذا المستنبت ... الا أن عدة مئات من المستعمرات قد ظهرت على أطباق بترى ، وعند عزل هذه الخلايا البنوية اتضح أنها كلها تحمل مورثات جيدة لكل من البيوتين والميثونين والثريونين والليوسين ، وبذلك فان الخلايا البنوية الناتجة تستطيع بناء احتياجاتها من هذه المركبات ولا تحتاجها في المستنبت الغذائي ، وبذلك فان الخلايا البنوية تكون bio^+ met^+ thr^+ leu^+ ... وقد بذلت محاولات عديدة جدا بهدف محاولة اثبات وجود قطع من الحمض النووى دنا تنتقل نقل مباشر Transformation ولكن كل هذه المحاولات فشلت في اثبات ظاهرة النقل المباشر . كما أنه من المستبعد أن تكون الطفرات المستعملة قد ارتدت الى السلالة البرية فقد أوضحت الحسابات أن احتمال حدوث الارتداد للسلالة البرية Wild type يكون أقل كثيرا مما ظهر فعلا عند خلط السلالتين ... وقد ثبت أخيرا خلال الفحص المجهري أن تكوين الخلطة الوراثية Genetic Recombinant في بكتيريا القولون E. coli يتطلب اتصال مباشر من خلية الى خلية وهو ما يعرف بالتزاوج Conjugation (شكل ٨ـ٩) .

وقد سبق شرح ما يحدث في عملية التزاوج في الباب الثالث بالتفصيل ، وسنتكلم هنا عن استخدام هذه العملية في وضع الخرائط الكروموسومية لبكتيريا القولون E.coli .

سبق الاشارة الى أن الخلايا التى تحتوى على عامل الخصوبة (عامل الذكورة) F factor تسمى الخلايا المذكرة F^+ حيث يحتوى عامل الخصوبة على المورثات المسئولة عن تحريك المواد الوراثية من الخلية

المعطية الى الخلية المستقبلة . والخلايا التى لا تحتوى على عامل الخصوبة تسمى الخلايا المؤنثة أو خلايا F^- . وفى مجتمع من خلايا F^+ فان عملية اندماج بين الكروموسوم وعامل الخصوبة تحدث فى خلية من كل 10^5 من الخلايا ، وهذه الخلية التى يندمج فيها عامل الخصوبة مع الكروموسوم تسمى الخلايا ذات الكفاءة العالية على تكوين الخلطات الوراثية High frequency recombination ويرمز لها عادة بالرمز Hfr (شكل ٩ــ٣٨) .

ولا يحدث اندماج عامل الخصوبة هذا فى نفس الموقع من الكروموسوم ، بل ان هذا الاندماج يحدث عادة فى ٨ــ١٠ مواقع مختلفة على الكروموسوم (شكل ١٩ــ٢) .



شكل ١٩ــ٢ : يوضح ثلاث أماكن مختلفة لعامل الخصوبة F factor فى خلايا Hfr ورؤوس الأسهم توضح اتجاه حركة الكروموسوم أثناء انتقاله من الخلية المذكرة الى الخلية المؤنثة ، وهى أماكن اندماج عامل الخصوبة.

وهناك مواقع أخرى من الكروموسوم يحدث فيها الاندماج ولكن بدرجة أقل كثيرا من المواقع العشرة المذكورة ، والمعتقد أن تلك المواقع العشرة على الكروموسوم البكتيرى تمثل ترتيبا معينا من القواعد النيتروجينية يشبه ترتيبا مماثلا له على عامل الخصوبة مما يسمح بحدوث الاندماج بينهما عند تلك المواقع. كما قد يحدث الاندماج أيضا بين عامل الخصوبة وأى بلازميد آخر فى الخلية اذا وجد التشابه فى ترتيب بعض القواعد على كلا من عامل الخصوبة والبلازميد المذكور.

كما أشرنا ، أن عملية الاندماج تلك هى عملية رجعية Reversible بمعنى أن مجتمعا من خلايا Hfr يحدث فيه انفصال لعامل الخصوبة على الكروموسوم وتتحول الخلية من Hfr الى F^+ وذلك فى خلية من كل 10^5 خلية ، وعلى ذلك فان كل مجتمع من خلايا F^+ يحتوى على عدد قليل من خلايا Hfr ، وكل مجتمع من خلايا Hfr يحتوى على عدد قليل من خلايا F^+ .

انتقال المادة الوراثية من خلايا Hfr معطية :

عند خلط معلق من بكتيريا Hfr مع خلايا F^- فان كل خلية Hfr تتصل بخلية F^- عن طريق زائدة جنسية Sex pilus ويبدأ فورا انتقال احدى سلسلتي الحمض النووى د ن أ للخلية Hfr المعطية فى الانتقال الى الخلية المستقبلة خلال الزائدة الجنسية Pilus. وحيث أن الحمض النووى د ن أ لكلا من الكروموسوم وعامل الخصوبة مندمجين فان نسخة من كلا من الكروموسوم وعامل الخصوبة تنتقل من الخلية المعطية الى الخلية المستقبلة اذا استمر وقت التزاوج لفترة كافية. والفترة الزمنية التى تكفى لانتقال نسخة كاملة من الكروموسوم وهى ٩٠ دقيقة ، ويتم انتقال المورثات بالتسلسل واحد بعد الآخر بحيث أن المورثات القريبة من مكان انفتاح السلسلة الحلقية للكروموسوم تنتقل أولا ثم الأبعد فالأبعد عن مكان انفتاح السلسلة الحلقية للكروموسوم ، وهكذا

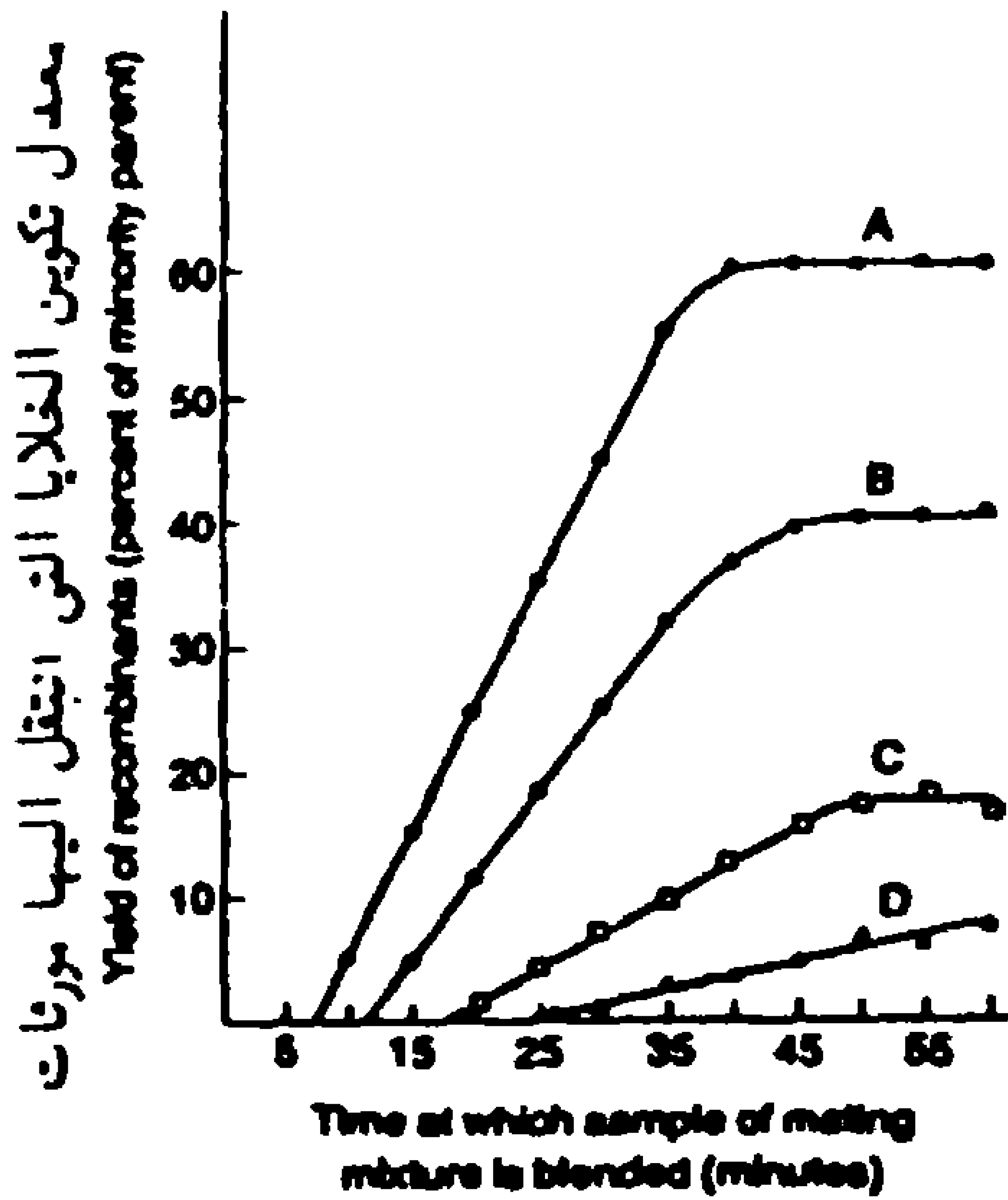
وبنهاية ٩٠ دقيقة من التزاوج يكون آخر مورث قد انتقل الى الخلية المستقبلة ، ولذلك تصمم الخريطة الكروموسومية لبكتيريا القولون E. coli على أساس أولوية وصول مورثات الخلايا المعطية الى الخلايا المستقبلة والوقت اللازم لانتقال هذه المورثات، ولذلك ترسم الخريطة الكروموسومية في صورة دائرة (تشبيها للكروموسوم الحلقي) ثم تقسم هذه الدائرة الى ٩٠ قسم (اشارة الى المورثات التي تنتقل خلال كل دقيقة من الدقائق التسعين) ٠

كما يجب الاشارة الى تسلسل وصول المورثات وأن ذلك يعتمد على موقع عامل الخصوبة F factor في الكروموسوم واتجاه حركة انتقال المادة الوراثية٠

وقد تم اكتشاف العلاقة الخطية Linear لزيادة تكوين الخلطات الوراثية المختلفة بالنسبة لوقت التزاوج بواسطة وولمان وجاكوب E.Wallman and F.Jacob عام ١٩٥٦ أثناء اجراء تجربة لدراسة كينتيكية تكوين الخلطات الوراثية٠ وقد أجريت هذه التجربة بخلط مزارع من خلايا F⁻ وخلايا Hfr ويسمح لها بالتزاوج لفترة زمنية مختلفة ثم أخذت عينات منها على تلك الفترات الزمنية المختلفة وضربت في خلاط على سرعة مرتفعة لفصل أي اتصال جنسي بين الخلايا ، ثم لقحت العينات على عدد من المستنبتات الانتخابية (وهي مستنبتات تسمح بنمو البكتيريا التي انتقل اليها مورثات معينة دون غيرها من البكتيريا) وذلك لتقدير عدد البكتيريا التي تم فيها الخلط الوراثي Recombination لأي مورث عند مرور كل فترة زمنية لأخذ العينات٠ وتظهر نتائج هذه التجربة في الشكل (١٩-٣) ، وفيه تم تمثيل المورثات (العلامات الوراثية Genetic markers) بالحروف A , B, C and D ومن الرسم يتضح أن كلما طال وقت التزاوج كلما انتقلت مورثات أكثر ، فمثلا في نهاية عشرة دقائق من الاتصال الجنسي يكون المورث A فقط قد انتقل الى الخلية المستقبلة وفي نهاية ١٥ دقيقة من الاتصال الجنسي يكون المورثين A , B قد انتقلا الى الخلايا المستقبلة ٠وان كانت نسبة انتقال A أكبر من نسبة انتقال B .

وتوضح هذه التجربة أن الخلية المعطية تحقن ببطء سلسلة كروموسومية فى الخلية المستقبلة ، ولذلك فان المورثات تصل الى الخلية المستقبلة فى ترتيب على حسب موقعها على الكروموسوم حتى تنتقل نسخة كاملة من الكروموسوم فى حوالى ٩٠ دقيقة . وميل الخطوط المتحصل عليها فى الشكل (١٩ـ٣) يوضح أن وقت بدء انتقال المواد الكروموسومية من الخلية المعطية الى الخلية المستقبلة ليس وقتا موحدا . فبعض الخلايا تبدأ تقريبا فور خلط خلايا F^- وخلايا Hfr بينما يكون بدء انتقال المواد الكروموسومية من الخلية المعطية الى الخلية المستقبلة متأخرا لفترات زمنية مختلفة .

أمكن بعد دراسات عديدة وضع الخريطة لكروموسوم بكتيريا القولون E. coli كما هى موضحة فى الشكل (١٧ـ٢) .

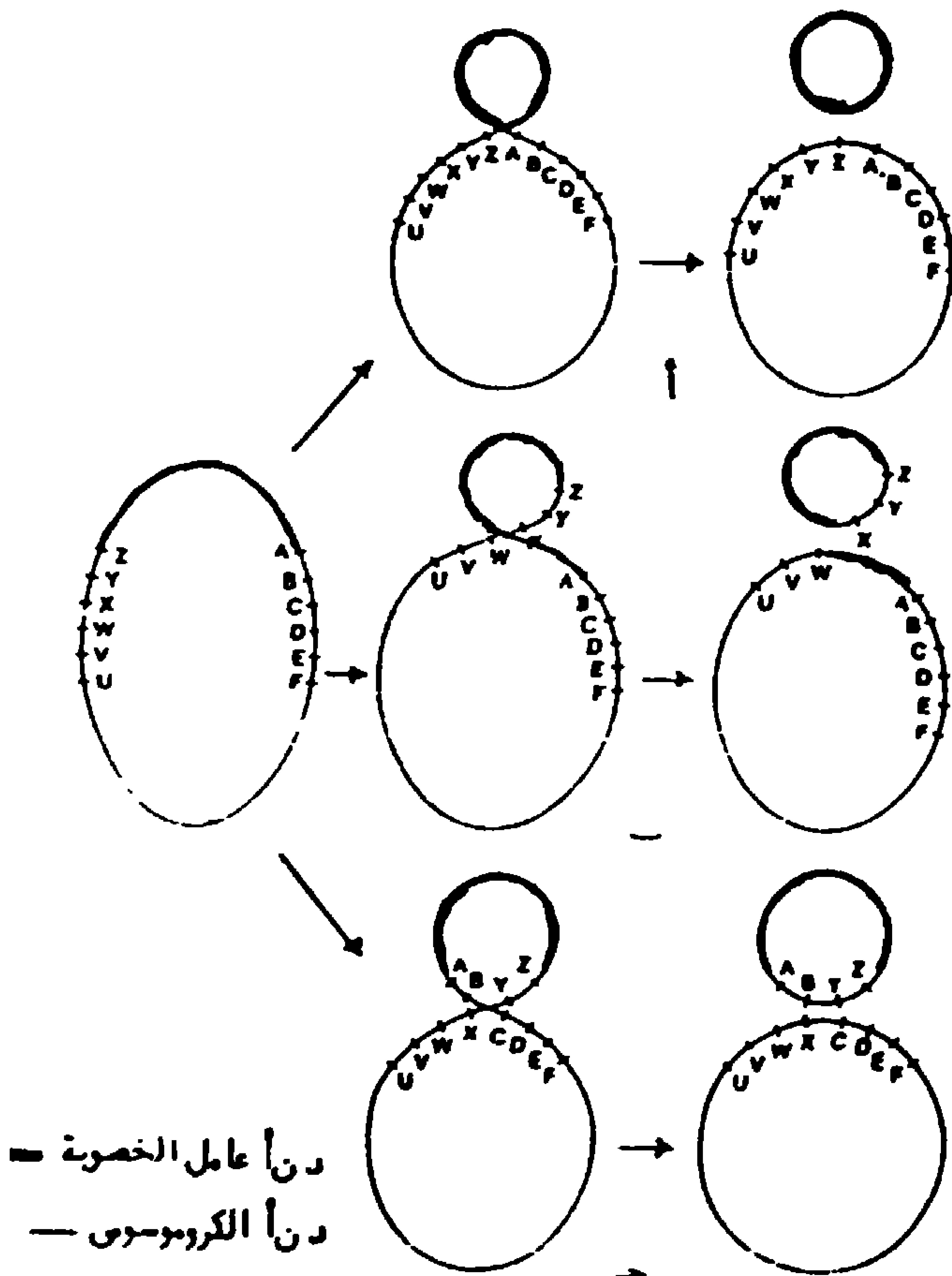


شكل ١٩ـ٣ : كينتيكية تكوين التبادل الوراثى

عن Wollman & Jacob المورث A هو أقرب المورثات لمكان عامل الخصوبة على الكروموسوم ويليه المورث B ويليه المورث C وهكذا ....

أصل خلايا F' وسلوكها فى التزاوج :

وقد سبق أن وضحنا أن كل مجتمع من خلايا Hfr (التى يكون عامل الخصوبة فى خلاياه مندمجا مع الكروموسوم) ينفصل عامل الخصوبة عن الكروموسوم فى خلية من كل ١٠^{5} خلية ليكون خلايا F^{+} . ومعظم حالات الانفصال تحدث فى نفس مكان الاتصال بالكروموسوم مكونة خلايا F^{+} المذكورة ، ولكن كحدث نادر لا يحدث الانفصال فى نفس مكان الاندماج ... ولكن يحدث الانفصال فى نقط أخرى بحيث أن عامل الخصوبة الدائرى المتكون نتيجة للانفصال يحمل مورثات من الكروموسوم (شكل ١٩ـ٤) . وفى مثل هذه الحالة تسمى الخلية F' أولية Primary F-prime . وعندما تكون المورثات الكروموسومية التى



شكل ١٩ـ٤ : تكوين المادة الوراثية لعامل الخصوبة فى خلايا F' الأولية.على اليسار يبدو كروموسوم خلية Hfr متكامل مع عامل الخصوبة ثم على اليمين ثلاث نظم لانفصال عامل الخصوبة عن الكروموسوم .

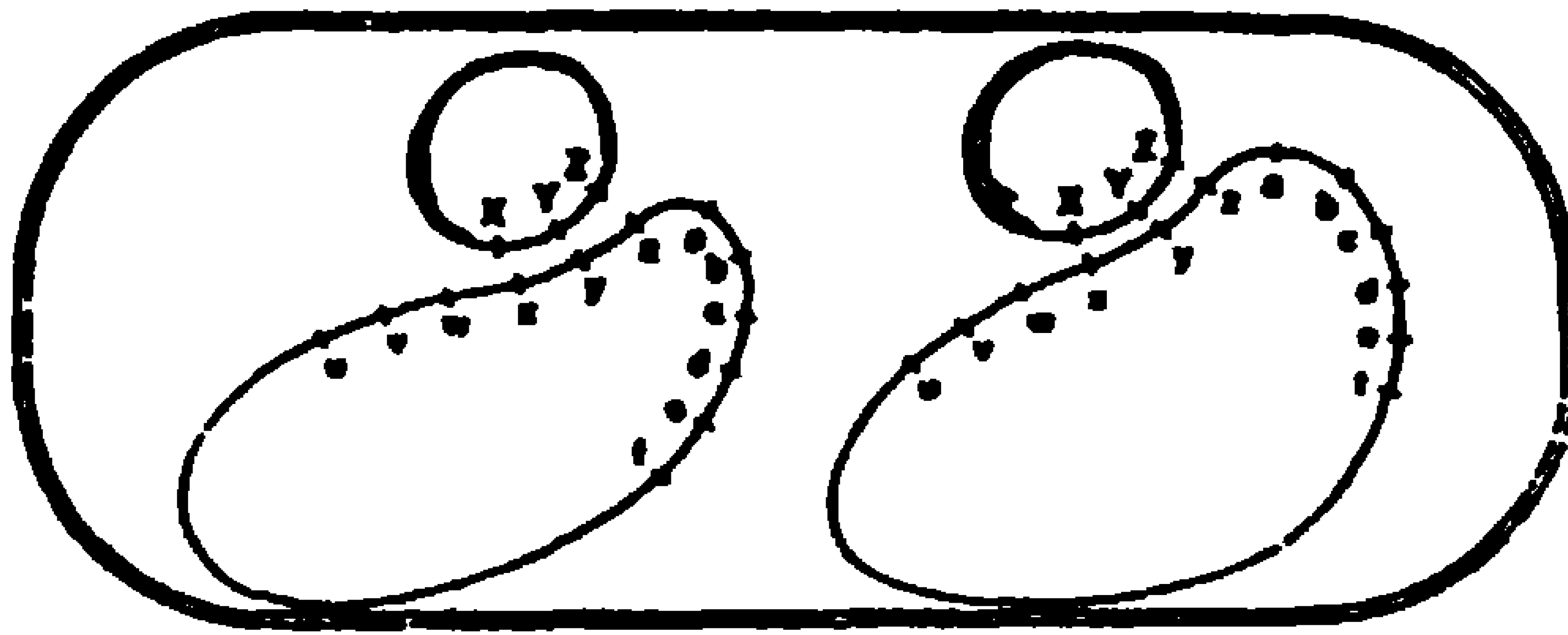
أ ـ الانفصال فى نفس نقط الاتصال الأصلية .

ب ـ الانفصال مع تبادل جزء من المواد الوراثية بين الكروموسوم وعامل الخصوبة .

جـ ـ الانفصال مع انتقال بعض المورثات من الكروموسوم الى عامل الخصوبة . فى الحالتين ب ، جـ تتكون خلايا F' الأولية والتى تحتوى على نسخة واحدة من المورثات المورثات Haploid وعند انتقال عامل الخصوبة ب ، ا، جـ الى خلية مؤنثة تتكون خلية F' ثانوية تكون ثنائية النسخ لبعض المورثات.

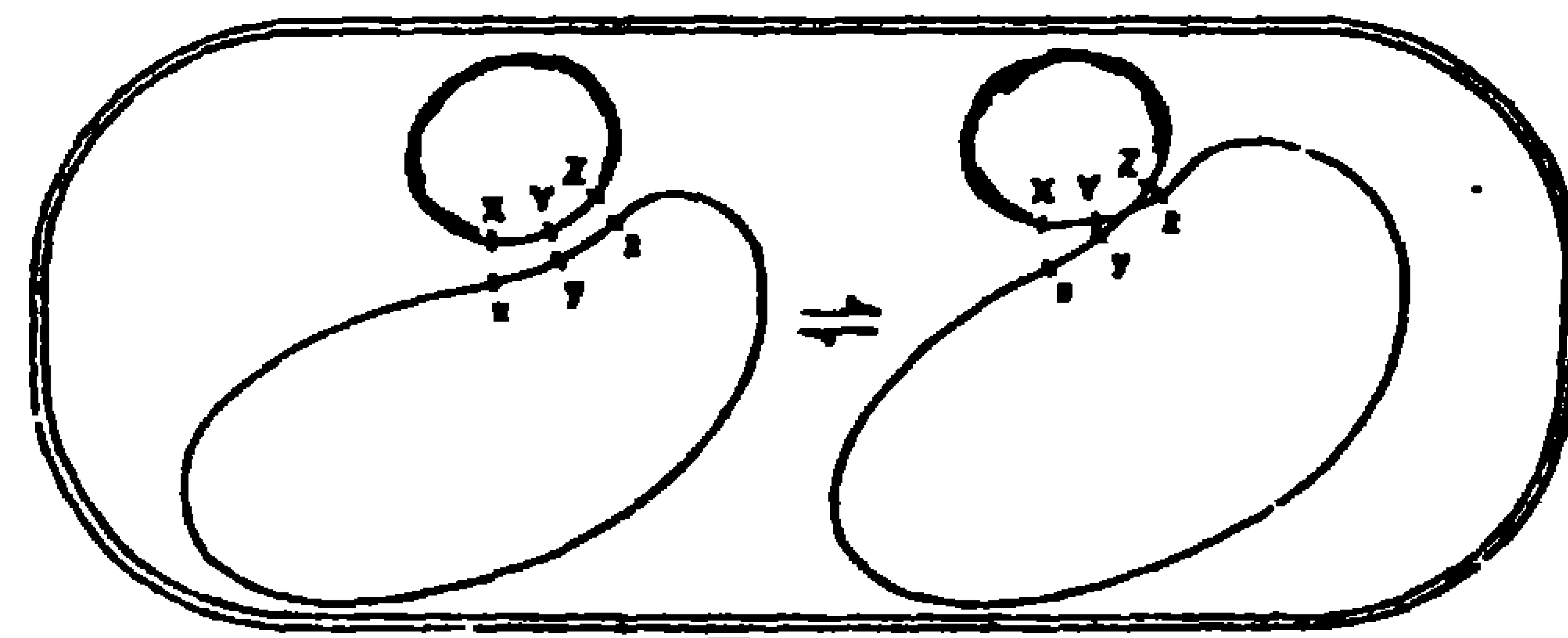
أصبحت جزء من عامل الخصوبة هامة جدا للخلية بحيث لا يمكن للخلية الاستغناء عنها مثل المورثات المسئولة عن تضاعف المادة الوراثية النووية أو مورثات بناء الحمض النووى رنا فان عامل الخصوبة الذى يحمل هذه المورثات الهامة يمكن اعتباره كروموسوما ثانيا فى الخلية ويؤدى فقده الى موت الخلية .

عندما تتزاوج خلايا مذكرة من نوع F' الأولية (وهى خلايا ذات قدرة عالية على تكوين الخلطات الوراثية أيضا) مع خلايا مؤنثة F⁻ فان نسخة من عامل الخصوبة الذى يحمل مورثات بكتيرية كروموسومية ينتقل من الخلايا المعطية F' الى الخلايا المستقبلة F⁻ وتتحول الخلايا المستقبلة F⁻ الى خلايا F' وتسمى فى هذه الحالة الخلايا F' الثانوية Secondary F' (شكل ١٩-٥) تمييزا لها عن خلايا F' الأولية . وتختلف خلايا F' الأولية عن F' الثانوية فى أن F' الثانوية تكون المادة الوراثية الأجنبية التى وصلت اليها تحمل نسخة اضافية من مورثات كانت موجودة أصلا فى الخلية ، وبذلك فان عامل الخصوبة فى F' الثانوية بما يحمل من مورثات يمكن الاستغناء عنه ، أما فى حالة خلايا F' الأولية فان المورثات التى يحملها عامل الخصوبة قد لا يمكن الاستغناء عنها لأنها هى النسخة الوحيدة التى انفصلت عن الكروموسوم كما سبق ايضاحه .



شكل ١٩-٥ : خلية F' ثانوية ، حيث تحتوى الخلية على نسختين غير متماثلتين من المورثات X, Y, Z .

ومما هو جدير بالذكر أن خلايا F' الثانوية والتي تحتوى على كروموسوما كاملا وعامل خصوبة محتويا على نسخ من بعض المورثات الموجودة على الكروموسوم تكتسب صفة الازدواجية Diploidy بالنسبة لبعض المورثات • ونظرا لوجود أجزاء كبيرة من الحمض النووى د ن أ ذات ترتيب متماثل على كل من الكروموسوم وعامل الخصوبة (لاحتوائهما على بعض مورثات مشتركة) فان اندماجهما وانفصالهما يحدث بصفة مستمرة الى أن يحدث اتزان بين خلايا F' الثانوية وخلايا Hfr الناتجة عنها • (شكل ١٩_٦) •



شكل ١٩_٦ : حدوث الاتزان بين خلايا Hfr وخلايا F' نتيجة انفصال عامل الخصوبة + بعض المورثات من كروموسوم خلايا Hfr

ثالثا : الحمل بالفاج Transduction

سبق مناقشته عند مناقشة الفيروسات•

الفصل العشرون
وراثة الأحياء الدقيقة حقيقية النواة وبيولوجيتها الجزيئية

التبادل (الخلط) الوراثي في الأحياء الدقيقة حقيقية النواة :
Genetic Recombination in Eucaryotic Protists

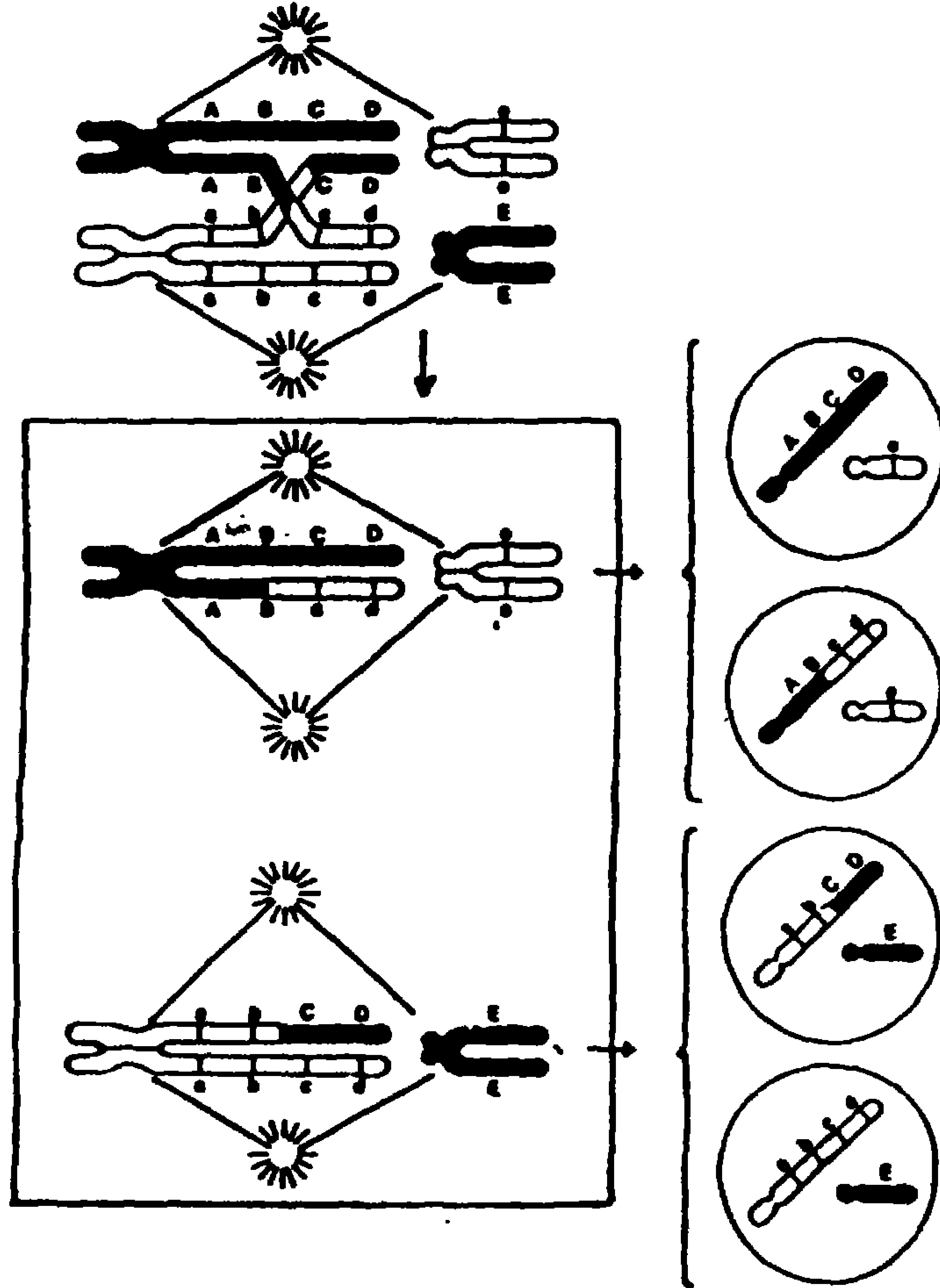
أولا : التبادل الوراثي أثناء الانقسام الاختزالي :
Meiotic recombination

تتميز الأحياء ذات النواة الحقيقية بوجود ما يعرف باسم دورة حياة جنسية وتتكون الخلطات الوراثية المختلفة في الكروموسومات أثناء الانقسام الاختزالي Meiosis · وخطوات حدوث الخلط الوراثي في هذا الانقسام الاختزالي موضحة تفصيلا في الشكل (٢٠ـ١) ومنه يمكن معرفة أن الخلط الوراثي في ذوات النواة الحقيقية يتم بطريقتين :

١ ــ نتيجة تجمع عدد من الكروموسومات الأبوية المعينة مع بعضها ·
٢ ــ بحدوث تبادل بين أجزاء من الكروموسومات ذات الكروماتيدات المتشابهة من خلال العبور Crossing-over الوراثي ·

فاذا أعطى أحد الأبوين صفتين على كروموسومين مختلفين كما في المورثات A E في الشكل (٢٠ـ١) فان كلا الصفتين لهما فرصة الظهور في أى خلية ناتجة عن الانقسام بنسبة ٥٠٪ · أما اذا كانت الصفتين الوراثيتين على نفس الكروموسوم مثل المورثين A ، B على الشكل (٢٠ـ١) فان هاتين الصفتين ستظلان متلازمتين اذا كان المورثين المسئولين عنهما مرتبطين Linked الا اذا حدث عبور وراثي بينهما وبالطبع فان احتمال حدوث عبور وراثي بين أى مورثين مرتبطين على نفس الكروموسوم يزداد بزيادة المسافة بينهما ·

لذلك ··· فان المسافة النسبية بين أى مورثين أبويين مرتبطين يمكن تقديرها بقياس المعدل النسبي لحدوث الخلطات الوراثية بين



شكل ٢٠-١ : التبادل الوراثي في الانقسام الاختزالـــــي
حيث يحدث تبادل وراثي بين الكروموسومات وينتهي بتكون ٤ خلايا يحتوي كل منها على نصف عدد الكروموسومات مع حدوث تبادل وراثي بين بعض الكروماتيدات

هذين المورثين أثناء حدوث الانقسام الاختزالي . وبعمل تلك القياسات للعديد من أزواج المورثات فانه يمكن عادة رسم خريطة وراثية لكـــل كروموسوم . وقد تم فعلا عمل الخرائط الوراثية للعديد من الفطريـــات بما في ذلك الفطر Neurospora crassa والفطر Aspergillus nidulans والخميرة Saccharomyces cerevisiae وكذلك الطحلب وحيد الخلية Chlamydomonas reinhardi .

ويعتقد أن الحمض النووى د ن أ فى كروموسومات ذوات النواة الحقيقية هو عبارة عن جزيء واحد مستمر من الحمض النووى د ن أ مزدوج السلسلة فى شكل لولب ملتف على بعضه بصورة غير واضحة حتى الآن • وعندما يتضاعف الكروموسوم فانه يتحول الى كروماتيداتين (٢ كروماتيدة 2 Chromatides) وكل كروماتيدة تحتوى على جزيء واحد من الحمض النووى د ن أ مزدوج السلسلة ، ويعتقد أيضا أن آلية حدوث العبور بين الكروماتيدات المتجاورة هى آلية مماثلة لما يحدث فى الفيروسات والأحياء الدقيقة بدائية النواة ، كما سبق ذكره •

تحول المورث Gene conversion

عند بداية الانقسام الاختزالى (الميوزى Meiosis) فان أزواج الكروموسومات تكون ممثلة بأربع Tetrad من الكروماتيدات (تأتى كل اثنين من الكروماتيدات من أحد الأبوين) وعند نهاية الانقسام الاختزالى فان الأربع كروماتيدات تنفصل فى أربع خلايا بنوية أحادية المجموعة الصبغية (الكروموسومية) Haploid وفقا لما جاء فى الشكل (٢٠ـ١) • فاذا كان المورث (العلامة الوراثية Genetic marker) (A) ممثلا بأربع مواقع Alleles على الكروماتيدات الأربع ، اثنتين منها (A) واثنتين منها (a) فان هذه المواقع لابد وأن تظهر فى الخلايا البنوية الأربع بنفس العدد أى أن اثنتين من الخلايا البنوية ستحمل المورث (a) والاثنتين الأخرتين من الخلايا البنوية ستحمل المورث (A) • وهذا التوزيع هو ما يعرف باسم التوزيع أو الفصل المندلى Mendelian segregation اشارة الى مكتشفها العالم مندل Mendel .

وفى عدد من الأحياء الدقيقة حقيقية النواة مثل الفطريات الأسكية أمكن عزل النواتج الأربعة للانقسام الاختزالى (الميوزى) وأمكن دراسة توزيع المورثات الأبوية فيما بين الخلايا البنوية الأربع وتسمى مثل تلك الدراسة بالتحليل الأربعى Tetrade analysis • وقد أثبتت تلك

الدراسات التوزيع (الفصل) المندلى للمورثات الأبوية فى معظم الحالات ولكن ليس كلها . فقد وجدت حالات استثنائية لا يتم التوزيع المندلى فيها بنسبة ٢ : ٢ كما سبق الذكر ولكن يتم التوزيع فيها بنسبة ٣ : ١ . فمثلا اذا كانت المورثات فى بداية الانقسام الاختزالى هى المواقع , (a) , (a) , (A) , (A) فان الخلايا البنوية الناتجة عن هذا الانقسام يكون ثلاثة منها تحتوى على الموقع (A) وواحدة فقط تحتوى على الموقع (a) وعلى ذلك فان أحد المواقع يكون قد تحول من (a) الى (A) أثناء العبور الوراثى للكروماتيدات ، وتسمى هذه الظاهرة باسم تحول المورث Gene conversion.

ومازالت خطوات حدوث هذا التحول غير واضحة ، كما ثبت أيضا حدوث ظاهرة تحول المورث دون حدوث عبور وراثى بين الكروماتيدات وان كانت أقل شيوعا .

ثانيا : التبادل الوراثى أثناء الانقسام غير المباشر :

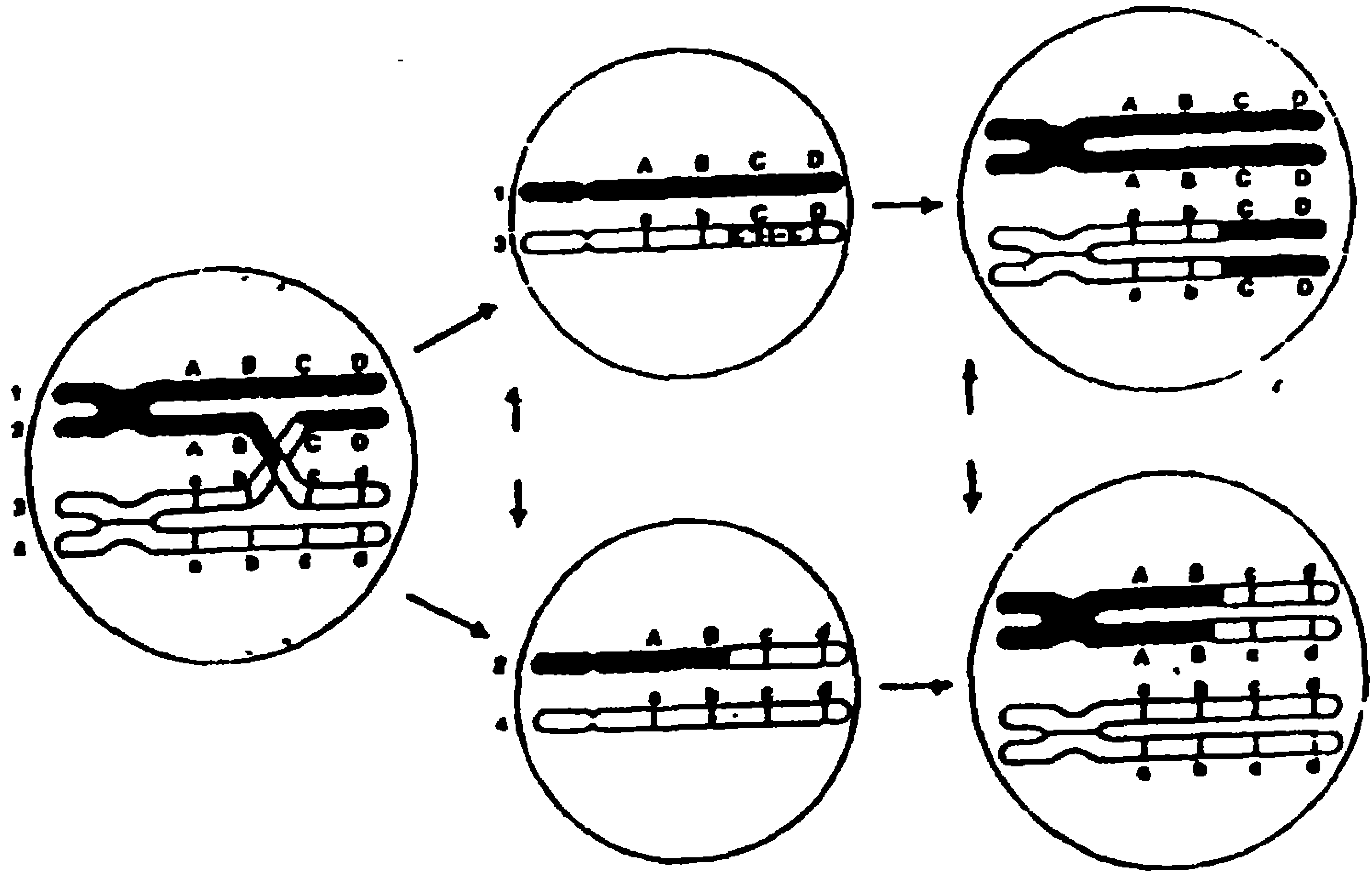
Mitotic recombination

تتكاثر كثير من الأحياء الدقيقة ذات النواة الحقيقية ثنائية الصبغيات Diploid بالانقسام غير المباشر Mitosis وهذه الخلايا ثنائية الصبغيات قد تنقسم بالانقسام الاختزالى Meiosis كما فى حالة الخمائر المتجرثمة Sporulating Yeasts . وقد تستمر فى الانقسام غير المباشر بصفة مستمرة .

وفى أثناء الانقسام غير المباشر فان الكروموسومات المتشابهة قد يحدث فيها عبور وراثى Crossing over كما يحدث فى الانقسام الاختزالى ، ولكن العبور الوراثى فى الانقسام غير المباشر أقل حدوثا عنه فى الانقسام الاختزالى . فاذا حدث العبور الوراثى بين المركز الصبغى Centromere وأى (مورث Gene) علامة وراثية genetic marker غير متجانسة Hetrozygous فان ٥٠ ٪ من الخلايا البنوية

الناتجة تصبح متجانسة Homozygous بالنسبة لهذه العلامة الوراثيــة وما يليها من علامات وراثية أخرى فى الناحية البعيدة عن المركز الصبغـى Centromere كما فى الشكل (٢٠_٢) ... ولذلك فان الصفات الظاهرية Phenotype للخلايا الأختية الناتجة قد تتغير نتيجة تحول بعــــض العلامات الوراثية من الحالة غير المتجانسة الى الحالة المتجانسة حيــث تظهر بعض الصفات المتنحية Recessive phenotype .

ولزيادة الايضاح فى شكل (٢٠_٢) لنفترض أن المورث D (صفــة سائدة dominant) يحمل المعلومات الوراثية لتكوين صبغة جراثيــم أحد الفطريات وهى صبغة خضراء (بالنسبة للسلالة البرية) ولنفتــرض



شكل ٢٠_٢: التبادل الوراثى فى الانقسام غير المباشــر .
يحدث عبور وراثى بين العلامتين الوراثيتين B ، C . حيث تتجــه اثنتين من الكروماتيدات الى كلا من الطرفين على غير ما يحدث فى الانقسام الاختزالى (شكل ٢٠_١) حيث يهاجر الى الأطراف كروماتيدة واحدة .
وكنتيجة للانقسام غير المباشر فى هذا المثال تصبح احدى الخلايا البنويــة تحتوى على نسختين للمورثين D و C السائدين Dominant بينمــا تصبح الخلية البنوية الأخرى تحتوى على نسختين للمورثين d ، c المتنحيين Recessive .

أن المورث d (صفة متنحية) يحمل المعلومات الوراثية لتكوين صبغة صفراء لجراثيم احدى طفرات نفس الفطر . فالجراثيم التى تحمل D/.D أو D/d ستكون بالطبع خضراء ، أما الجراثيم التى تحمل d/d نتيجة للعبور الوراثى أثناء الانقسام غير المباشر Mitotic crossover ستصبح صفراء .

ويمكن كذلك استخدام العبور الوراثى فى الانقسام غير المباشر فى رسم الخرائط الوراثية للكروموسومات المختلفة . ففى شكل (٢٠-٢) يمكن استنتاج أن مورثات D، C، B، A مرتبطة Linked اذا حدث عبور وراثى واحد فى موقع بين المركز الصبغى Centromere ، والمورث ينتج عنه تكوين خلايا متجانسة بالنسبة للمورثات الأربعة كلها A , B , C,D . بينما يؤدى حدوث العبور الوراثى بين A , B ينتج عنه خلايا متجانسة بالنسبة للمورثات B, C, D وهكذا . وكما هو الحال بالنسبة للانقسام الاختزالى فان المسافة النسبية بين كل مورثين تتناسب مع معدل حدوث العبور الوراثى . فكلما زادت المسافة بين أى مورثين على نفس الكروموسوم كلما زاد معدل حدوث عبور وراثى بينهما ، ويمكن زيادة معدل حدوث العبور الوراثى فى أثناء الانقسام الاختزالى ببعض المواد التى تسبب الطفرات السابقة الذكر (فى الفصل الثامن عشر) .

الأفراد ذات العوامل الوراثية المختلفة Hetrocaryosis والتزاوج بين افراد نفس الجنس Parasexuality فى الفطريات:

فى الأحياء الراقية يمكن التمييز بين الذكر والأنثى فى أفراد نفس النوع وفقا لصفات معينة ، أما فى بعض الأحياء الدقيقة حقيقية النواة يكون التمييز صعبا ... أو مستحيلا كما فى بعض الفطريات، لذلك فكثيرا ما يشار الى طرفى التزاوج لنفس النوع باسم المتزاوج Mating type والمتزاوج الآخر Opposite mating type .

فى بعض الفطريات قد يحدث نوع من التزاوج بين هيفات نفس المتزاوج Mating type ولكن ذلك لا يؤدى الى اكتمال دورة جنسية (المقصود بالدورة الجنسية هو حدوث تزاوج بين أبوين مختلفين جنسيا لنفس النوع وتكوين أفراد (أبناء) جديدة تحمل صفات وراثية ناتجة عن الأبوين) بل أفراد جدد تحمل أنوية من كلا الهيفتين الأبويتين (وكلاهما من نفس المتزاوج) ويلاحظ أن أنوية كل هيفا تهاجر الى الهيفا الأخرى وذلك لأن الميسليوم متعدد الأنوية وتكون الصفات الظاهرية للميسليوم ناتجة عن التعبير عن الصفات الوراثية للأنوية المختلفة فى الميسليوم ٠

وفى معظم الحالات لا يحدث اندماج لتلك الأنوية ولكنها تنقسم بالانقسام غير المباشر بطريقة مستقلة ٠ لذلك تسمى هذه الأفراد باسم الأفراد ذات العوامل الجنسية المختلفة Hetrocaryous ٠ ومثل تلك الفطريات تحمل صفات الأبوين وان كانت جميع الأنوية بها أحادية الصبغيات Haploid .

التبادل (الخلط) الوراثى فى مواد غير نووية :

فى مجموعة من الفطريات وهى الخمائر Yeasts ثبت حدوث نوع من التبادل (الخلط) الوراثى السيتوبلازمى بين مورثات فى الميتوكوندريا لأحد الأبوين ومورثات فى الميتوكوندريا فى الأب الآخر ٠ وأمكن بذلك أيضا عمل خرائط وراثية للمواد الوراثية فى ميتوكوندريا الخمائر ٠

وبالمثل ثبت امكانية حدوث التبادل (الخلط) الوراثى السيتوبلازمى بين المادة الوراثية فى البلاستيدات الخضراء لفطر الكلاميدوموناس Chlamydomonas reinhardi (وهو فطر وحيد الخلية صغيرا جدا يحتوى على نواة واحدة وبلاستيدة خضراء واحدة وميتوكوندريا واحدة أو عدة ميتوكوندريات ، وهذا الفطر يمثل الضوء بصفة اختيارية ويمكنه النمو فى الظلام على أملاح الخلات Acetate كمصدر للكربون والطاقة) ٠

ثبت الاصطلاحات العلمية

(إنجليزي - عربي)

A

Abberation	الزيغ (عدم الوضوح - التشويش)	Antigen	انتيجن (مواد مولدة للاجسام المضادة)
Abiota	الأشياء غير الحية	Antimicrobial agents	مواد مضادة لنشاط ونمو الأحياء الدقيقة.
Acid fastness	مقاوم للأحماض		
Acidity effect	تأثير الحموضة	Antiseptic	مطهرات للجلد (خارجية)
Acidophiles	محب للحموضة	Antiserum	المصل المضاد
Active transport	نقل نشط	Antheridium	عنصر التذكير في الفطريات الرقية
Adenine (A)	آدنين	Aquatic fungi	فطريات مائية
Adsorption	امتزاز (أدمصاص)	Aquired Immune Deficiency Syndrome	مرض نقص المناعة المكتسب في الانسان (الايدز)
Aerotaxis	الاستجابة الحركية بتأثير الهواء		
Aerotolerant anaerobes	أحياء لا هوائية تتحمل وجود الهواء	Artificial classification	تقسيم اصطناعي (غير طبيعي)
Agar Agar	آجار آجار		
Agar diffusion method	طريقة الانتشار خلال الآجار	Artificial media	مستنبتات (بيئات صناعية)
		Asci	أكياس أسكية (زقية)
Agarose	اجاروز	Ascogonium	عضو التأنيث في الفطريات الأسكية
Akinetes	اكينيتس	Ascogenous hyphea	هيفا أسكوجونية
Algae	طحالب	Asco carp	أجسام ثمرية
Algicides	مبيدات طحالب	Ascomycetes	فطريات أسكية (زقية)
Algistatics	مثبطات طحالب	Ascospores	جراثيم (أبواغ) أسكية (زقية)
Algology (Phycology)	علم الطحالب	Ascus	كيس اسكي (زقي)
		Assimilation	التغذية على (تمثيل)
Aminoglucosides	جلوكو ريدات أمينية	Atmosphere	الغلاف الجوي
Ammonification	النشدرة	Attractants	مواد جاذبة
Amoeba	أميبا	Autoclave	معقم (اتوكلاف)
Anisogamy	تزاوج بين جاميطات غير متماثلة	Autogamy	التزاوج الذاتي
Antibiotics	مضادات حيوية	Autolysis	التحلل الذاتي
Antibodies	أجسام مضادة	Auxtrophy	الاحتياج لعوامل نمو معينة

Axenic culture مزرعة نقيــة٠

B

Bacteria بكتيريا

Bacterial counting عد البكتيريا

Bacterial filters مرشحات بكتيرية

Bacterial viruses فيروسات بكتيرية

Bacteriophage (Phages) آكلات البكتيريا (الفاجات)

Bacteriocides مبيدات البكتيريا

Bacteriology علم البكتيريا

Bacteriolytic محلل (مذيب)البكتيريا

Bacteriorhodopsin بكتيريورودوبسين

Bacteriostatic مثبط لنشاط البكتيريا

Baker's yeast خميرة الخباز

Balanced growth نمو متزن

Barophilic محبة للضغط المرتفع

Barotolerant تتحمل الضغط المرتفع

Basidia حوامل بازيدية

Basidiomycetes fungi فطريات بازيدية

Basidiospores جراثيم (أبواغ) بازيدية

Basidium حامل بازيدي

Berkefeld filter مرشح بركفلد

Binal shape شكل مركب

Binary fission انقسام ثنائي بسيط

Binding protein بروتينات الارتباط

Bionomial system of nomenclature النظام الثنائي للتسمية

Bioassay تقدير تركيز المواد بالطرق الحيوية

Biological assay media مستنبتات التقدير الحيــوي٠

Biology علــم الأحياء

Biologists علماء الأحياء

Biosphere الغلاف الحيوي (الحياتي)

Biota الأحياء

Biotechnology علم التقنية الحيوية

Blue green bacteria البكتيريا الخضراء المزرقة

Botanists علماء النبات٠

Branched متفرع

Bromothymine بروموثيمين

Brown algae الطحالب البنية

Budding تبرعــم

C

Capsid (كابسيد) الغطاء البروتيني للفيروسات

Capsule الكبسولة (العلبة)

Carboxysomes كاربوكسيسومات

Carnivorous آكلات اللحوم

Cell pool محتويات خلوية

Cellular membrane غشاء خلوي

Cell wall جدار خلوي

Centromere المركز الصبغي

Chamberland filter مرشح تشمبرلاند

Chemically defined media مستنبتات محددة التركيب الكيميائي

Chemical composition of viruses التركيب الكيميائي للفيروسات

Chemicals effect تأثير الكيميائيات

Chemoautotrophes ذاتية التغذية كيميائيا .

Chemohetrotrophes غير ذاتية التغذية كيميائيا .

Chemo receptors مراكز الاحساس بالكيميائيات

Chemostat كيموستات

Chemotaxis الاستجابة الحركية بتأثير الكيميائيات

Chemotherapeutic agents مواد كيميائية علاجية (الأدوية)

Chemotrophic أحياء تستمد طاقتها من التفاعلات الكيميائية

Chlorobium vesicles فجيوات الكلوروبيم

Chlorophyll الكلوروفيل (اليخضور)

Chlorophyta الطحالب الخضراء

Chloroplasts البلاستيدات الخضراء

Chromosome كروموسوم (صبغية)

Chromosome mapping وضع (رسم) خريطة الكروموسوم .

Chromosome replication تضاعف الكروموسوم

Chrysophyta الطحالب الذهبيه

Cilia أهداب

Ciliates الهدبيات (ذوات الأهداب)

Ciliophera حاملات الأهداب

Classification تقسيم

Coarse adjustment ضبط تقريبي

Coccus كروي

Coenocytic متعدد الأنوية

Cold environment البيئات الطبيعية الباردة

Cold osmotic shock صدمة البرودة الأسموزية

Colicin (col) factor عامل (الكوليسين)

Coliphage فيروسات بكتيريا القولون .

Collodion membrane الغشاء الرغوي

Colony مستعمرة

Columella نهاية الحامل الجرثومي

Complex shape شكل معقد

Condensor مكثف

Conical مخروطي

Conidiophor حامل كونيدي

Conidiospores (conidia) جراثيم (أبواغ) كونيدية

Conjugation التزاوج (الاتصال)

Conjugative Plasmids بلازميدات الاتصال

Contamination تلوث

Continuous culture الزرع المستمر

Contractile tail ذيل قابل للانقباض

Contractile vacuole فجوة منقبضة

Cosmic rays أشعة كونية

Core لب

Coulter counter عداد كولتر .

Cristae	الثنيات الداخلية لغشاء الميتوكوندريا .
Cross-over	عبور وراثي
Cross walls	جدر عرضيــة
Cryophilic	أحياء محبــة للبرودة
Cryptic mutants	طفرات عاجزة
Cryptogram	كربتوجرام
Cultivation	التزريع (الزرع)
Culture	مزرعــة
Culture media	مستنبتات مزرعية
Cyanobacteria	البكتيريا الخضراء المزرقة
Cyanophycin	سيانوفايسين
Cytopharynx	البلعوم في الهدبيات
Cytoplasmic membrane	غشاء سيتوبلازمي
Cytoproct	فتحة الاست في الهدبيات

D

Dark field microscopy	مجهر الحقل المظلم
Daughter cells	الخلايا الأختية
Death phase	مرحلة الموت
Degradative plasmid	بلازميدات التحطيم
Detection	الكشف عن
Denitrification	اختزال (نزع) النيترات
Denitrifying bacteria	بكتيريا اختزال النيترات
Deoxyribonucleic acid-DNA	حمض دي أوكسي ريبونيوكليك د ن أ
DNA base composition	تركيب د ن أ من القواعد .
dsDNA viruses	فيروسات د ن أ مزدوج السلسلة .
ssDNA viruses	فيروسات د ن أ وحيد السلسلــة .
Density gradient centrifugation	الطرد الكثافـــي المتدرج .
Deutromycetes	الفطريات الناقصة
Dextrans	الدكسترنات
Diatomes	الدياتومات
Differential centrifugation	الطرد المركزي التفريقي
Diferential media	مستنبتات تفريقية
Differentiation	التكشف
Dinoflagellates	الطحالب السوطيـــة (السوطيات الطحلبية)
Dipicolinic acid	حمض دي بيكولينيك
Diploid	ثنائي المجموعة الصبغية (مزدوج الصبغات) .
Direct count	العد المباشر
Disinfectants	المطهرات السطحية
Dissecting microscope	مجهر التشريح
Donor cell	خلية معطيــة
Double hilex	تركيب حلزوني مزدوج
Doubling time	وقت تضاعف العدد
Dynamic	نشط أو ديناميكي

E

Ecosymbiosis	التكافل الخارجي
Electrone microscope	مجهر الكتروني

Electrophoresis	الهجرة في مجال كهربي.
Endocytosis	الادخال (التناول)
Endogenote	المادة الوراثية الداخلية
Endomixis	الاختلاط الذاتي
Endoplasmic reticulum	الشبكة الاندوبلازمية
Endospore	جراثيم (أبواغ) داخلية
Enrichment	دعم (بمغذيات أو بظروف خاصة.
Enteric bacteria	بكتيريا الأمعاء
Envelope	الغلاف
Enveloped	مغلفة
Environment	بيئة
Enzyme	انزيم
Episome	العامل الجنسي
Euactinomycetes	الاكتينومايسيتس الحقيقية.
Eucaryotes	حقيقية النواة (ذوات النواة الحقيقية)
Euglenophyta	الطحالب اليوجيلنية
Eurothermal	مدى واسع من درجات حرارة النمو
Exocytosis	الاخراج (الطرد)
Exoenzymes	انزيمات خارجية
Exogenote	المادة الوراثية الأجنبية
Exosporium	الغلاف الخارجي للجرثومة
Exponential growth	نمو لوغاريتمي.
Extreme halophiles	احياء تتطلب محاليل مشبعة من الملح بصفة اجبارية

F

Facilitated diffusion	الانتشار المدعم.
Facultative	اختياري
- anaerobic	لاهوائي اختياري
- halophile	محب للملح اختياري
Female(F^-) cells	خليه مؤنثة (بكتيريا)
Fermentation	تخمر
Ferns	السرخسيات
Fertility(F) factor	عامل الخصوبة (الذكورة)
Fiberils	ألياف ذيلية
Filamentous	خيطي
Filosa	خيطية الأقدام الكاذبة
Filterable viruses	الفيروسات القابلة للترشيح (الرشيحات)
Filter paper disc method	طريقة أقراص ورق الترشيح
Fimbriae	زوائد عادية في البكتيريا
Fine adjustment	ضبط دقيق
Flagella	أسواط (فلاجلات)
Flagellates	السوطيات (بروتوزوا)
Flagellin	فلاجلين (بروتين الأسواط)
Florescence	فلورسنت
Food Chain	سلسلة الغذاء
Food vacuole	فجوة غذائية
Foraminifera	المثقبات

Fossils الحفريات

Free radicals أصول حرة

Freezing effect تأثير التجميد

Freezing of microbial culture تجميد المزارع البكتيرية

Fruiting structure أجسام ثمرية

Fungi الفطريات

- gardens حدائق الفطر

Fungicides مبيدات الفطريات

Fungistatic مثبطات الفطريات

G

Gamatangium كيس أو حامل جاميطي

Gametes جاميطات

Gametophyte طور جاميطي

Gametothallus ثالوس جاميطي

Gas vesicles فجيوات غازية

Gas vacuole فجوات غازية

Gel-Chromatography فصل كروماتوجرافي هلامـــي

Gene مورث (جين)

- conversion تحول المورث

- therapy معالجة المورثات

Generation time وقت جيلي

Genetic code شفرة وراثية

Genetic marker علامة وراثية

Genetic recombination خلط (تبادل) وراثي

Genome حاملة وراثية

Genotype صفات وراثية

Genus جنس

Germ-free animals حيوانات خالية من الأحياء الدقيقة

Germicides مبيدات أحياء دقيقة

Germination انبات (للجراثيم)

Germistatics مثبطات الأحياء الدقيقة

Gliding حركة انزلاقية

Glycolipids جليكوليبيدات

Glycoproteins جليكوبروتينات

Glyoxysomes جليوكسومات

Golgi bodies أجسام جولجي

Gonidia الجونيدء

Gram stain صبغة جرام

Green bacteria البكتيريا الخضراء

Group translocation النقل المصحوب بالتغيير الكيميائي .

Growth النمو

- cycle دورة النمو

- efficiency كفاءة النمو

- factors عوامل النمو

- factor analogue شبيهات عوامل النمو

- individual cells نمو الخلايا المفردة

Guanine (G) جوانين

H

Haemagglutinating spikes بروزات التلازن الدموي .

Haemagglutination	تلازن الدم	Hydrosphere	الغلاف المائي (للأرض)
Halophilic	محبة للملوحة	Hypha (Hyphae)	هيفا (هيفات) الفطريات
Haploid	أحادي (بعدد) المجموعة الصبغية (الصفات)	I	
Helical	حلزوني	Icosahedral	متعدد (عديد) الأوجه.
Heliozoa	الشمسيات	Identification	علم التعرف
Herbivorous	آكلات العشب	Imperfect fungi	الفطريات الناقصة
Hetrocaryosis	التزاوج بين الأفراد ذات العوامل الوراثية المختلفة	Immunology	علم المناعة
Hetrocysts	حويصلات	Inclusion bodies	الأجسام المدمجة الداخلية
Hetroduplex	متباين السلاسل (الجدائل)	India ink	الحبر الهندي
Hetrothallic	متباين الثالوس.	Infectious plasmids	البلازميدات المعدية
Hetrozygous	متباين الزيجوت	Infera red	تحت الحمراء
High frequency recombinant (Hfr)	خلايا ذات قدرة عالية على نقل الصفات الوراثية (التبادل الوراثي)	Influenza	مرض الانفلونزا.
		Infusaria	انفيوزاريا
High temperature environments	البيئات الطبيعية مرتفعة الحرارة.	Inoculation	لمسة تلقيح (للأحياء الدقيقة)
Histones	هستونات	Inoculation room	حجرة تلقيح للأحياء الدقيقة.
Hold fast	مزودة بأجهزة لتثبيت نفسها	Integration	تكامل
Homologies	مدى تماثل سلاسل الأحماض النووية بعضها لبعض.	Interferon	انترفيرون
Homologious sequance	ترتيبات متماثلة لسلاسل الأحماض النووية بعضها لبعض.	Internal membrane	أغشية داخلية
		International Committee on Taxonomy of Viruses (ICTV)	اللجنة الدولية لتقسيم الفيروسات
Homothallic	متماثل الثالوس		
Homozygous	متجانسة		
Hormogonia	هورموجونيا	International Union of Microbiological Societies (IUMS)	الاتحاد الدولي للجمعيات الميكروبيولوجية.
Hot springs	ينابيع الماء الساخنة الطبيعية		
Hydrophilic	محب للماء	Ionizing radiation	أشعة التأين
Hydrophobic	كاره (غير محب) للماء	Irreversible	غير رجعي
		Isogamy	تزاوج بين جاميطات متشابهة

Isolation العـــزل

K

Kinetics of death حركية (كينتيكية) الموت

Kineties الجهاز الحركى للهدبيات

Kinetosomes أجسام حركية

Kingdom Animalia المملكة الحيوانية

Kingdom Plantae المملكة النباتية

Kingdom Procaryotae مملكة بدائية النواة

L

Lag phase المرحلة التمهيدية

Lateral bodies أجسام جانبية .

Leucophytes الطحالب البيضاء

Lichens الآشنات (تكافل فطر مع طحلب)

Lipids ليبدات (دهون)

Lipopolysaccharides عديدات سكريدات دهنية

Liquid media مستنبتات سائلة

Lithosphere اليابســة

Lopodia أنبوبية الأقدام الكاذبة

Longitudinal fission انقسام طولى

Loop ابرة تلقيح ذات عقدة

Lophotrichous طرفية الأسواط

Lovibond comparator صندوق مقارنة الألوان

Lysosomes ليسوسومات .

M

Macromolecules جزيئات كبيرة

Macroorganisms أحياء كبيرة

Male cells خلايا مذكرة

Mastigophora السوطيات (بروتوزوا)

Mating type المتزاوج (أحد المتزاوجين)

Matrix protein البروتين الشبكى

Maximum temperature درجة الحرارة القصوى

Media مستنبتات (بيئات صناعية)

Meiosis الانقسام الاختزالى

Meiosporangia أكياس جرثومية اسبورانجيـة تحتوى على أبواغ أحادية المجموعة الصبغية

Meiotic recombination التبادل الوراثى فى الانقسام الاختزالى .

Meiospores أبواغ (جراثيم) أحادية المجموعة الصبغية .

Membrane filters المرشحات الغشائية

Membrane vesicles المثانات الغشائية .

Merozygote زيجوت (لاقحـة)

Mesophilic محب للحرارة المتوسطة

Mesosomes ميسوسومات

Metabolism الأيض (التمثيل الغذائى)

Metal shadowing التظليل بالمعادن

Microaerophilic أحياء دقيقة تحتاج لكميات صغيرة من الأكسجين .

Microbes-Micro-organisms أحياء دقيقة (ميكروبات)

Microbiology علم الأحياء الدقيقة

Micromanipulator	جهاز العزل الدقيق .
Microtubular structure	نظام الانابيب الدقيق
Microtubules	أنابيب دقيقة .
Micrometer	ميكرومتر (١ / ٠٠٠ر٠٠٠ ١ من المتر)
Microscope	مجهر .
Mineral base	أساس (قاعدة) أملاح معدنية
Mineralization	المعدنة
Minimal inhibitory concentration (MIC)	أقل تركيز مثبط للنمو .
Minimum temperature	درجة الحرارة الدنيا (الصغري)
Mitochondria	ميتوكوندريا
Mitosis	الانقسام غير المباشر
Mitosporangia	اكياس اسبورانجية تحتوي على أنواع ثنائية المجموعة الكروموسومية (الصبغية)
Mitospores	أبواغ (جراثيم) ثنائية المجموعة الصبغية .
Mitotic recombination	التبادل الوراثي في الانقسام غير المباشر .
Mixed culture	مزرعة مختلطة
Mixed flagellation	مختلط الأسواط
Moist heat	الحرارة الرطبة
Mold	عفن (فطر)
Monotrichous	وحيد السوط
Morphology	علم الشكل الظاهري
Mosses	الحزازيات
Most Probable number (MPN)	العدد الأكثر احتمالا
Motile	متحرك
Motility	الحركة

Mucilage	مواد جيلاتينية أو مخاطية
Mucopeptide	ميوكوبتيد
Multicellular	عديد الخلايا
Murein	ميورين
Mushroom	عيش الغراب (فطر)
Mutagensis	احداث الطفرات
Mutants	الطفرات
Mutation	التطفر
Mycelium	ميسليوم
Mycology	علم الفطريات
Mycorrhizia	ميكوريزا (تكافل فطر مع جذر نبات راقي)
Myxobacteria	ميكسوبكتيريا
Myxomycetes	الفطريات اللزجة

N

Naked	معراة (بدون غلاف)
Natural classification	التقسيم الطبيعي
Natural microflora	الميكروفلورا الطبيعية
Negative staining	الصبغ السالب
Negative strand	السلسلة (الجديلة) السالبة
Neuromotor apparatus	جهاز حركي عصبي
Nitrate assimilation	تمثيل النيترات
Nitrification	النترتة
Nitrifying bacteria	بكتيريا النترتة (النترات)
Nitrogen fixation	تثبيت الأزوت (النيتروجين)

Nomenclature التسمية

Non-septate غير مقسم بجدر عرضية

Nuclear genome مادة وراثية نووية

Nuclear membrane غشاء نووي

Nucleic acids أحماض نووية

Nucleic acid hydrobidization and homologies تهجين الأحماض النووية وتماثلها

Nucleocapsid نيوكليوكابسيد (جسيم فيروسي معري)

Nucleolus نوية

Nucleosides نيوكليوسيدات

Nucleotides نيوكليوتيدات

Nucleus نواة

Nucloid شبيه النواة

Numerical taxonomy تقسيم عددي

O

Objective lens عدسة شيئية

Obligate aerobic هوائي حتمي (اجباري)

Obligate anaerobic لاهوائي حتمي (اجباري)

Obligate halophiles تتطلب الملح حتميا (اجباريا)

Octane plasmid بلازميد الأوكتان

Ocular lens عدسة عينية

Oospore جرثومة بيضية أو خلية البويضة

Optically active compounds مركبات نشطة ضوئيا

Optimum temperature درجة الحرارة المثلى

Organellar genomes مواد وراثية عضية (غير نووية)

Organelles عضيات (تصغر أعضاء)

Osmophilic أحياء محبة للتركيزات المرتفعة من السكر.

Osmoregulation تنظيم الضغط الأسموزي

Osmosis الانتشار الغشائي

Osmotic lysis الانفجار الأسموزي

Osmotic pressure الضغط الأسموزي

Osmotolerant الأحياء الدقيقة التي تتحمل الضغط الأسموزي المرتفع.

Osmotrophic أحياء تستمد غذاءها عن طريق الانتشار خلال الغشاء الخلوي

P

Palmella stage الطور الباليللي

Parasexuality التزاوج بين أفراد نفس الجنس

Parental أبوي

Partial zygote زيجوت (لاقحة) جزئي

Passive diffusion الانتشار الانسيابي

Pasteurization البسترة

Pear shaped شكل الكمثري

Penicillin البنسلين

Penicillinase factor عامل البنسلينيز

Peptidoglycan ببتيدوجليكان

Peptone ببتون

Periplasmic space الحيز البيريبلازمي

Periplast بيريبلاست

Peritrichous محيطية الأسواط

Peroxisomes بيروكسيسومات

Peteroff-Housser slide شريحة بتروف - هاوزر

Petri dish طبق بتري
Phaeophyta الطحالب البنية
Phages الفاجات (فيروسات البكتيريا)
 conversion تحويل
 enumeration كشف واظهار
 genetic and molecular biology وراثة وبيولوجيا جزيئية
 ghosts أشباح
 Isolation عـزل
 Modification تعديل
 Mutants طفرات
 One step growth curve منحنى نمو الخطوة (المرحلة) الواحدة
 Repression and induction كبت وحث
 Restriction اقصاء
 Temperate معتدلة
 Virulent ضارية
Phagocytosis الابتلاع (الالتهام)
Phagotrophic أحياء تتناول غذائها بالابتلاع
Phase contrast microscope مجهر الأطوار المتباينة (التباين)
Phenotypes الصفات الظاهرية
 dominant سائد
 recessive متنحية
Phenotic classification تقسيم مبني على الصفات الظاهرية (اصطناعي)
Phospholipids فوسفوليبيدات
Photoautotrophes أحياء ذاتية التغذية ضوئيا .

Photohetrotrophes أحياء غير ذاتية التغذية ضوئيا .
Photosensitizers مواد متحسسة للضوء
Photosynthesis تمثيل ضوئي
Photosynthetic bacteria بكتيريا ممثلة للضوء
Photosynthetic flagellates سوطيات ممثلة للضوء
Phototrophic أحياء تمثل الطاقة الضوئية .
Phycobilin فيكوبلين
Phycocyanin فيكوسيانين
Phycomycetes فطريات طحلبية
Phylogenetic classification تقسيم تطوري (طبيعي)
Phytomastigophora سوطيات طحلبية
Pinocytosis الشرب (في البروتوزوا)
Plant viruses الفيروسات النباتية
Plasmic membrane الغشاء البلازمي
Plasmids البلازميدات
Plasmodium بلازموديم
Plasmolemma غشاء البلازما
Poliomylitis مرض شلل الأطفال
Polyamines عديدات الأمين
Polyacrylamid بولي اكريلاميد
Poly B hydroxy-butyric acid بولي بيتاهيدروكسي حمض البيوتريك
Polycationic عديد الكاتيونات
Polyhedral عديد الأسطح
Positive staining الصبغ الموجب
Positive strand السلسلة الموجبة

Poured plates الأطباق المصوبة
Precipitation الترسيب
Predator مفترس
Pressure الضغط
Primary consumer المستهلك الأولي (الاساسي)
Primary producer المنتج الأولي (الاساسي)
Proactinomycetes الاكتينومايسيتس البدائية
Procaryotes بدائية النواة (ذوات النواة البدائية)
Progany ذرية
Proplastids بلاستيدات بدائية
Protein coat غطاء بروتيني
Proteins البروتينات
Protoplast البروتوبلاست
Prototroph (wild type) سلالة برية (لا تحتاج لعوامل نمو)
Protozoa بروتوزوا
Protozoology علم البروتوزوا
Prryophyta الطحالب البيرية
Pseudopodia ذوات أقدام كاذبة
Pseudopods أقدام كاذبة
Psychrophilic محبة للبرودة
Psychrotroph تتحمل البرودة
Pure culture مزرعة نقية
Pyrenoids أجسام خاصة يتكون فيها النشا

R

Rabies مرض الكلب
Radiation effect تأثير الاشعاع
Radiolaria الشعاعيات
Receipient مستقبل
Recombination التبادل (الخلط) الوراثي
- bacteria في البكتيريا
- meiotic في الانقسام الاختزالي
mitotic في الانقسام غير المباشر
- virus في الفيروسات
Relatedness القرابة (الانتساب)
Repair mechanism of dark reactivation نظم الاصلاح التي تتم في الظلام (لا تحتاج لضوء)
- Photoreactivation نظم الاصلاح التي تحتاج للضوء
Repellants مواد طاردة
Replication تضاعف
Reserve material مواد مخزنة
Resistance factor عامل المقاومة
Resolving power قوة التمييز
Ribonucleic acid (RNA) حمض الريبونيوكليك (رنا)
- Double stranded RNA رنا مزدوج السلسلة
- Massenger (mRNA) مرسال (مرنا) رنا
- Ribosomal RNA (rRNA) رنا ريبوسومي (ررنا)
- Single stranded RNA (ssRNA) رنا مفرد السلسلة
- Soluble RNA (sRNA) رنا ذائب (س رنا)
- Transfer RNA (tRNA) رنا ناقل (ترنا)

Ribosomes ريبوسومات

Rhodophyta الطحالب الحمراء

Rhizoids أشباه جذور

Rhizopoda ذوات الأقدام الكاذبة

Rod-shaped شكل عصوي

Rolling circle model نموذج الدائرة المتدحرجة .

Rusts الأصداء

S

Scalariform سلمي

Scanning electrone microscope المجهر الالكتروني الماسح

Schizogany التكاثر بالانشقاق

Schizomycetes قسم الفطريات

Sea weeds أعشاب البحر

Seitz filter مرشح سيتز

Selective media مستنبتات انتخابية

Selective toxicity سمية اختيارية

Semisolid media مستنبتات شبه صلبة

Septate مقسم بجدر عرضية

Serum مصل

Sex factor عامل جنسي

Sex pili زائدة جنسية في البكتيريا

Sheath غلاف

Simple diffusion الانتشار البسيط

Single cell proteins بروتينات وحيدة الخلية

Slime layer الطبقة الهلامية

Slime mold الفطريات اللزجة

Smuts التفحمات

Solid media مستنبتات صلبة

Solidifying agents مواد مصلبة

Somatic cells الخلايا الخضرية (الجسدية)

Species نوع

Spindel مغزل

Spontaneous generation theory نظرية التوالد الذاتي

Sporangia أكياس جرثومية اسبورانجية

Sporangiophore حامل الأكياس الاسبورانجية

Sporangiospore جراثيم (أبواغ) اسبورانجية

Sporangium كيس جرثومي اسبورانجي

Spores أبواغ (جراثيم)

Sporocyst غلاف جرثومي

Sporogony التكاثر التزاوجي (الجرثومي)

Sporophyte طور (مرحلة) جرثومي

Sporozoa الجرثوميات (في البروتوزوا)

Spread plates الفرد على الأطباق

Stage مسرح (في المجهر)

Staining صبغ

Star shaped شكل النجمة

Starter (s) بادئ (بادئات)

Stationary phase طور السكون (الثبات) أو المرحلة الساكنة أو الثابتة

Stenothermal مدى ضيق من درجات حرارة النمو
Sterilization تعقيم
Steroids ستيرويدات
Sterols ستيرولات
Stigma (eye spot) بقعة عينية
Stolons هيفات مدادة
Strain سلالة
Strigma أطراف مدببة تحمل عليها الجراثيم البازيدية
Sulfa drugs مركبات السلفا
Sulfanilamid سلفانيلاميد
Sulfur granules حبيبات الكبريت
Sulfur oxidizing bacteria بكتيريا مؤكسدة للكبريت
Symbiosis تكافل (تعاون)
Syphilis مرض الزهري
Synchronous growth نمو الخلايا ذات العمر الواحد
Systematics دراسات تصنيفية

T

Taxonomic group مجموعة تقسيمية
Taxonomy علم التقسيم
Temperate viruses فيروسات معتدلة
Terresterial أرضي
Tetracyclines تتراسيكلينات
Thallophyta الثالوسيات
Thallus الثالوس (الجسم الخضري)
Thermoduric تتحمل الحرارة المرتفعة
Thermophilic محبة للحرارة المرتفعة
Thylakoids الثنيات الداخلية لغشاء البلاستيدات.
Thymine (T) ثيمين
Thymine dimers ازدواج الثيمين
Tissue culture مزارع الأنسجة
Tracking microscope مجهر التتبع
Transcription نسخ (المعلومات الوراثية)
Transduction الحمل بالفاج
- Abortive الاجهاضي
- Generalized العام
- Specialized الخاص
Transformation نقل مباشر (للمعلومات الوراثية)
Translation ترجمة (المعلومات الوراثية)
Tube dilution method طريقة التخفيف في أنابيب
Two membered culture مزرعة الفردين (المزدوجة)
Tyndallization التعقيم بالمعاملات الحرارية.

U

Ultra violet (UV) light أشعة فوق بنفسجية.
Unicellular وحيد الخلية
Uninucleate وحيد النواة
Unit membrane وحدة الغشاء
Uracil (U) يوراسيل
Uridiospores جراثيم (أبواغ) يوريدية
Vaccine لقاح (فاكسين)
Vacoule فجوة

Vegetative خضري

Vertebrates viruses فيروسات الفقاريات

Vestigia بلاستيدة خالية من الكلوروفيل

Viable count عد الخلايا الحية

Vibrio خلايا منحنية انحناءة واحدة

Virales رتبة الفيروسات

Virion فيريون

Viroid فيرويد

Virology علم الفيروسات

Virulent phages فاجات ضارية

Viruses فيروسات

- Conversion تحويل
- Modification تعديل
- Restriction اقصاء

Visible light أشعة مرئية

Volutin granules حبيبات فوليوتين

W

Water activity نشاط الماء

Wet steam بخار رطب

X

X-rays الأشعة السينية

Xylan الزيلان

Y

Yeasts خمائر

Yellow fever الحمى الصفراء

Z

Zoochlorellae الكلوريللا الحيوانية

Zoologists المتخصصون في علم الحيوان

Zoomastigophora السوطيات الحيوانية

Zoosporangium اكياس الجراثيم الاسبورانجية السابحة (الحيوانية)

Zoospore جرثومة حيوان سابحة

Zooxanthellae الزانثيللا الحيوانية

Zygospores أبواغ (جراثيم) زيجية

Zygote لاقحة (زيجوت)

المراجع العربية :

(١) ابراهيم ، اسماعيل على ، وحسين العروسى وسمير ميخائيل ومحمد على عبد الرحيم - ١٩٧٥ - أمراض النبات. دار المطبوعات الجديدة بالاسكندرية . مصر .

(٢) أبو الدهب ، مصطفى كمال ، ومحمد عبد القادر الجمرانى ١٩٨٤ - البكتيريا (الجزء الأول) ، دار المعارف بالاسكندرية . مصر .

(٣) أبو الدهب ، مصطفى كمال ، ومحمد عبد القادر الجمرانى ١٩٧٦ - البكتيريا - طرق الدراسة المعملية . دار المطبوعات الجديدة بالاسكندرية . مصر .

(٤) أبو زنادة ، عبد العزيز حامد (١٩٨٣) . أساسيات علم الكائنات الحية الدقيقة . عمادة شئون المكتبات - جامعة الملك سعود - الرياض بالسعودية .

(٥) أبو زنادة ، عبد العزيز حامد ، ومحمد الجوهرى محمود ١٩٨٠ - المجهر والبنيات الدقيقة - عماد ، شئون المكتبات - جامعة الرياض - الرياض - المملكة العربية السعودية .

(٦) البرجس ، محمد ١٩٨٥ . الهربس . مطابع دار القبس - الكويت .

(٧) التكريتى ، سعدون وحامد حسن طنطاوى وفاروق خالد حسن وفيلكس يوسف (١٩٨١) حمى وادى الرفت . وزارة الصحة العراقية - بغداد .

(٨) الشيخلى ، جودت سامى ١٩٧٩ . التجارب المختبرية فى ميكروبات الأغذية والألبان - مطبوعات جامعة الرياض - بالرياض بالمملكة العربية السعودية .

تابع: المراجع العربية :

(٩) الصادق ، جمال الدين محمد ، وسعد على زكى محمود ١٩٦٢ . الميكروبيولوجيا التطبيقية العملية . دار الهنا بالقاهرة بمصر .

(١٠) العروس ، حسين ، عماد الدين وصفى ١٩٨١ . المملكة النباتية . دار المطبوعات الجديدة بالاسكندرية . مصر .

(١١) الكسندر ، مارتن ١٩٨٢ . مقدمة فى ميكروبيولوجيا التربة . جون وايلى . نيويورك .

(١٢) اللجنة الوطنية للتربية والثقافة والعلوم بوزارة المعارف بالمملكة العربية السعودية ١٩٨٣ . المعجم الموحد للمصطلحات العلمية فى مراحل التعليم العام .

(١٣) الهرفى ، حرب عطا - ١٩٨٦ ، ايدز . دار تهامة - جدة - المملكة العربية السعودية .

(١٤) بعلبكى ، منير ١٩٨١ . قاموس المورد . دار العلم للملايين - بيروت - لبنان .

(١٥) بوين ، وليم ١٩٦٢ . علم الأحياء الدقيقة . مكتبة النهضة المصرية بالقاهرة .

(١٦) شلبى ، محمد عبد الحميد سليمان (١٩٨٣) الأمراض الفيروسية المشتركة بين الانسان والحيوان وأثرها فى برامج التنمية والتكامل بين البلاد العربية . مجلة البحث العلمى العربى - العدد الثانى عشر - بغداد .

(١٧) شومان ، محمد طلعت (١٩٧٧) : علم جراثيم الحيوان (الجزء الثانى) الفيروسات واللقاحات . القسم العلمى - كلية الطب البيطرى - جامعة حلب .

تابع: المراجع العربية :

(١٨) طرابلس ، ابراهيم يوسف، وجودت سامي الشيخلي ١٩٧٩ الميكروبيولوجيا العلمية ــ عمادة شئون المكتبات ــ جامعة الرياض بالرياض ــ المملكة العربية السعودية ٠

(١٩) عبد العزيز ، مصطفى : علم الفيروسات ١٩٧٩ ٠ عمادة شئون المكتبات٠ جامعة الملك سعود بالرياض ٠ الرياض٠ المملكة العربية السعودية ٠

(٢٠) عبد العزيز، مصطفى ، وأحمد محمد مجاهد وأحمد الباز يونس وعبد الرحمن أمين ١٩٧٩ ــ النبات العام٠ مكتبة الأنجلو المصرية ــ القاهرة ٠ مصر ٠

(٢١) فكرى ، محمد عزيز (١٩٦٠) ٠ الفيروس٠ دار المعارف ــ القاهرة٠

(٢٢) فجلة ، جابر ، ابراهيم ، ومصطفى حلمى الحمادى وحامد محمود فريد ــ ١٩٧٦ الفيروس وأمراض النبات الفيروسية ٠ دار المطبوعات الجديدة ــ اسكندرية ــ مصر ٠

(٢٣) محمود ، سعد على زكى ، وعصمت خالد علام (١٩٦٩) ٠ أمراض النبات البكتيرية والفيروسية ٠ مكتبة الأنجلو المصرية ــ القاهرة بمصر ٠

(٢٤) محمود ، عبد العزيز ، ومحمود عبد الرحمن البرعى وسمير محمد حسن بلتاجى ، ومحمد نظيم شحاته ١٩٧٨ ــ اللافقاريات٠ مكتبة الأنجلو المصرية٠ مصر ٠

REFERENCES

1. Ackerman, H.W.; Audurier, A.; Besthiaum, L.; Jones, L.A.; Mayo, J.A.; Videver, A.K. (1978): Guidelines for bacteriophage characterization. Adv. Virus Res. 23: 1-24.

2. Alexopulos, C.J. (1979): Introductory mycology. John Wiley and Sons.

3. Andrews, C. and H.G. Pereira (1972): Viruses of vertebrates. 3rd ed. Baltimore, Maryland, Williams and Wilkins, 1972.

4. Ayres, J.C.; J.O. Mundt and W.E. Sandine (1980): Microbiology of Foods. W.H. Freeman & Co. San Francisco, Ca, U.S.A.

5. Bablanian, R. Structural and functional alteration of cultured cells infected with cytocidal viruses. Prog. Med. Virol. 19: 40.

6. Baron, S. (1979): The interferon system. ASM news, 45:358.

7. Bawden, F.C. (1954): Inhibitors and Plant Viruses. Adv. Virus Res. 2, 31.

8. Bawden, F.C. (1964): Plant Viruses and Virus Diseases, 4th edition, New York: Ronald Press Co.

9. Beemster, A.B.R. and Dijkstra, J. (eds.) (1966): Viruses of Plants Amsterdam: North Holland.

10. Bennett, C.W. (1967): Plant viruses: Transmission by Dodder. In Maramorosch and Koprowski. 1: 393.

11. Bennett, C.W. (1967): Epidimiology of Leafhopper-Transmitted Viruses. Ann. Rev. Phytopath. 5: 87.

12. Benett, C.W. (1969): Seed Transmission of Plant Viruses Adv. Virus Res. 14: 263.

13. Beveridge, W.I.B. (1967): Epidemiology of virus diseases. In Viral and rickettsial of animals Vol.1. Edited by A.O. Betts and C.J. York; Academic Press, New York.

14. Benchat, L. (1979): Food and beverage mycology. AVI Publ. Co., Westport, Conn., U.S.A.

15. Bold, H.C. and M.J. Wynne (1978): Introduction to the algae. Prentice Hall, New Jersey, U.S.A.

16. Bos, L. (1967): Methods of Studying Plants as Virus Hosts. Methods in Virology, 1: 129.

17. Bos, L. (1970): Symptoms of Virus Diseases in Plants. 2nd Edition, Wageningen: Pudoc.

18. Bos, L. (1970): Bean Common Mosaic Virus, C.M.I./A.A.B. Description of Plant Viruses, No. 73.

19. Bos, L. (1976): Onion Yellow Dwarf Virus, C.M.I./ A.A.B. Description of Plant Viruses, No. 158.

20. Brock, T. (1979): Biology of Microorganisms, 3rd ed. Prentice Hall Inc., Englewood Cliffs, New Jersey, U.S.A.

21. Brown, M.H. (1982): Meat microbiology. Applied Science Publishers, London.

22. Buchanan, R.E. and N.E. Gibbons (1974): Bergy's manual of determinative bacteriology. Williams and Wilkins Co. Baltimore, U.S.A.

23. Buxton and Fraser (1977): Animal Microbiology Volume,2 Rickettsias and Viruses., Blackwell Scientific Publications Ltd.

24. Carter, G.R.; and Roberts, A.W. (1973): Outline of veterinary virology, 2nd ed. Columbia, Mo., Lucas Brothers Publishers, U.S.A.

25. Champe, S. (1974): Phage, Dowden, Hutchinson and Ross Inc. Stroudsburg, Pennsylvania, Philadelphia, U.S.A.

26. Chichester C.O. and H.D. Graham (1973): Microbial Safety of fishery products. Academic Press, New York.

27. Davis, D.D.; R. Dulbecco; H.N. Eisen and H.S. Ginsberg (1980): Microbiology, 3rd ed. Harber and Row Publishers. New York, U.S.A.

28. Esau, K. (1968): Viruses in plant Hosts: Form, Distribution, and Pathological Effects. The University of Wisconsin Press, Milwaukee, U.S.A.

29. Fenner, F. et al (1974): The biology of animal viruses, 2nd ed., Academic Press. New York, U.S.A.

30. Fenner, F.J., and White, D.O. (1976): Medical Virology, 2nd ed., Academic Press, New York, U.S.A.

31. Fields, M. (1979): Fundamentals of food microbiology. AVI Publ. Co. Westport, Conn., U.S.A.

32. Fox, J.P.; and Elveback, L.R. (1975): Hard Immunity and Immunopathology. Edited by A.L. Notbins., Academic Press, New York, U.S.A.

33. Fraenkel-Conrat, H. (1969): The Chemistry and Biology of Viruses. New York: Academic Press, U.S.A.

34. Fraenkel-Conrat, H. and P.R. Rueckert (1967): Analysis of Protein Constituents of Viruses. In Maramorosch and Koprowski, 3:1.

35. Fraenkel-Con rat, H. and Wagner, B.R. (1979): Comprehensive Virology. Vol.14, Plenum Press, New York, U.S.A.

36. Frazier, W.C. (1978): Food microbiology. McGraw Hill New York, N.Y., U.S.A.

37. Fritch, F.E. (1977): The structure and reproduction of the algae I & II. Cambridge University Press, London.

38. Frobisher, M.; R.D. Hinsdill; K.T. Crabtree and C.R. Goodheart (1974): Fundamentals of microbiology, W.B. Saunders Co., Philadelphia, Penn, U.S.A.

39. Fulton, R.W. (1966): Mechanical Transportation of Viruses of Woody Plants. Ann. Rev. Phytopath. 4:79.

40. George, E. Cottral (1978): Manual of Standardized methods for Veterinary Microbiology, Comstock, Publishing Associates, a division of Cornell University Press, Ithaca and London.

41. Gibbs, A.J. (1973): Viruses and Invertebrates, North Holland Publishing Comp. New York, U.S.A.

42. Gibbs, A.J. (1969): Plant Virus Classification, Adv. Virus Res. 14:263.

43. Gibbs, A.J. and B.D. Harrison (1968): Realistic Approach to Virus Classification and Nomenclature. Nature, 218:927, London.

44. Gibbs, A.J. and B.D. Harrison (1976): Plant Virology: The Principles. Edward Arnold Ltd., London.

45. Gillespie, J.H. and Timoney, J.F. (1981): Hagan and Bruner's Infectious Diseases of Domestic Animals. Cornell University Press.

46. Hall, C.E. (1974): Electron Microscopy: Principles and Application to Virus Research. In Corbett and Sisler, 1964, p.253.

47. Hamilton, R.I. (1974): Replication of Plant Viruses. Ann. Rev. Phytopath. 12:223.

48. Harris, K.F. and K. Maramorosch (1977): Aphids as Virus Vectors. Academic Press: New York.

49. Harrison, B.D. (1977): Ecology and Control of Viruses with Soil Inhabiting Vectors. Ann. Rev. Phytopath. 15:331.

50. Hayes, W. (1974): The genetics of bacteria and their viruses. 2nd ed. John Wiley and Sons, New York, U.S.A.

51. Heinrich, M.R. (1976): Extreme environments. Academic Press, New York.

52. Hershey, A.D. and M. Chase (1952): Independent Functions of Viral Protein and Nucleic acid in growth of Bacteriphage. J. Gen. Physiol. 36: 39-56.

53. Hewitt, W.B., G. Martelli, H.F. Dias, and R.H. Taylor (1970): Grapvine Fanleaf Virus. C.M.I./A.A.B. Description of Plant Viruses, No. 87.

54. Hobbs, B.C. and J.H.B. Christian (1973): The Microbiological Safety of Food. Academic Press, New York.

55. Hofstad, M.S., et al. (1978): Diseases of Poultry, 7th ed. Ames, Iowa State University Press, U.S.A.

56. Hollings, M. (1965): Disease Control Through Virus-Free Stock. Ann. Rev. Phytopath. 3:367.

57. Holmes, F.O. (1964): Symptomatology of Viral Diseases in Plants. In Corbett and Sisler, p.17.

58. Holmes, F.O. (1965): Genetics of Pathogenicity in Viruses and of Resistance in Host Plants. Adv. Virus. Res. 111-139.

59. Holmes, F.O. (1968): Trends in the Development of Plant Virology. Ann. Rev. Phytopath. 6:41.

60. International Commission on Microbiological specification for foods of the international association of microbiological societies (ICMSF) 1975. Microorganisms in Foods Vol. 1 & 2. University of Toronto Press, Toronto, Canada.

61. Kado, C.I. and H.O. Agrawal. (eds). (1972): Principles and Techniques in Plant Virology. New York: Van Nostrand Reinhold Co.

62. Knight, C.A. (1974): Molecular Virology. McGraw-Hill New York.

63. Lennette, E.H.; and Schmidt, N.J. (1979): Diagnostic Procedures for Viral. Rickettsial and Chlamydial infectious. 5th ed. Washington, D.C. American Public Health Association.

64. Levy, J.; J.J.R. Campbell; and T.H. Blackburn (1973): Introductory microbiology. John Wiley and Sons. New York.

65. Lodder, J. (1970): The yeasts, a taxonomic study. North Holland Publish Co., Amsterdam, Holland.

66. Longberg-Holm, K.I. and Phillipson, L. (1974): Early interaction between animal viruses and cells. Monog. Virol. 9:1.

67. Luria, S.E. et al (1978): General Virology, John Wiley and Sons.

68. Mathews, R.E.F. (1982): Classi.:cation and nomenclature of viruses. Fourth report of the international committee on taxonomy of viruses. Intervirology 17: 27-39.

69. Mathews R.E.F. (1970): Plant Virology. Academic Press, New York.

70. Mathews, R.E.F. (1973): Induction of Disease by Viruses. with special reference to Turnip Yellow Mosaic Virus. Ann. Rev. Phytopath. 11: 147.

71. Mayr, A. (1981): New emerging viral zoonoses, Behring Institut, Mitt. No. 69, 57-64.

72. McKercher, D.G. (1977): T-Bovin reproductive diseases. In Bettsville Symposia in Agriculture. I. Virology in Agriculture. Edited by Romberger. Montelair, N.J.; Allenheld Osmum & Co. U.S.A.

73. Mckinney, H.H. and G. Silber (1968): Methods of Preservation and Storage of Plant Viruses. In Maramorosch and Koprowski, 2:491.

74. Merchant, I.A. and R.A. Packer (1967): Veterinary bacteriology and virology. Iowa State University Press, Ames, Iowa, U.S.A.

75. Mitchell, R. (1974): Introduction to environmental microbiology. Prentice Hall, London.

76. Mohanty, S.B. and Dutta, S.K. (1981): Veterinary Virology. Lea and Febiger Publish Co. Philadelphia.

77. Nnochiri, E. (1975): Medical microbiology in the tropics. Oxford University Press.

78. Pelczar, M.J., R. Reid and E.C.S. Chan (1977): Microbiology McGraw-Hill Co. New York.

79. Peppler, H.J. and D. Perlman (1979): Microbiol Technology I & II Academic Press.

80. Phaff, H.J.; M.W. Miller and E.M. Mrak (1978): The life of yeasts. Harvard University Press, Cambrdige Massachusetts, U.S.A.

81. Price, W.C. (1970): Citrus Tristeza Virus, C.M.I./A.A.B. Description of Plant Viruses, No. 33.

82. Rhodes, M.E. (1979): Food Mycology, G.K. Hall & Co. Boston, Massachusetts, U.S.A.

83. Roberts, D.A. (1964): Local Lesion Assay of Plant Viruses. In Corbett and Sisler, 1964, p.194.

84. Scott, F.W. (1983): Veterinary Virology, New York State College of Veterinary Medicine, Cornell University. N.Y., U.S.A.

85. Skinner, F.A. and J.G. Carr (1976): Microbiology in agriculture, Fisheries and Food. Academic Press, London.

86. Skinner, F.A. and J.G. Carr (1974): The normal microbial flora of man. Academic press.

87. Smith, K.M. (1977): Plant Viruses. Chapman and Hall, London.

88. Stainer, R.; E.A. Adelberg; and John Ingraham (1976): The microbial world. 4th ed. Prentice-Hall Inc. Englewood Cliffs, New Jersey, U.S.A.

89. Stevenson, G.B. (1970): The biology of fungi, bacteria and viruses. American Elsevier Publish. Co. N.Y.

90. Webster, John (1980): Introduction to Fungi Cambridge University Press, London.

91. Wiese, M.V. (1977): Compendium of wheat diseases. The American Phytopathological Society, St. Paul, Minn, U.S.A.

92. Wolfgang, K. Joklik (1980): Principles of Animal Virology, Appleton-Century-Corfts/New York. U.S.A.

93. WHO Report of Expert Committee with the participation of FAO: Bacterial and Viral Zoonoses (1982): World Health Organization, Geneva.

94. Yamada,K.; S. Kinoshita; T. Tsunonda and K. Aida (1972): The microbial production of amino acids, John Wiley and Sons, New York.

المحتويات

الباب الأول

صفحة

تطور علم الأحياء الدقيقة وأهميته وطرق دراسته

صفحة

الباب الثاني

الأحياء الدقيقة حقيقية النواة

صفحة

الباب الثالث

الأحياء الدقيقة بدائية النواة : (البكتيريا)

صفحة

صفحة

صفحة

الباب الرابع

النمو والتكاثر فى الأحياء الدقيقة الخلوية وكيفية التحكم فيه

صفحة

الباب الخامس

علم الفيروسات العام

صفحة

صفحة

الباب السادس

الفيروسات البكتيرية (الفاج)

صفحة

الباب السابع

وراثة الأحياء الدقيقة وبيولوجيتها الجزيئية

صفحة

رقم الايداع بدار الكتب

١٩٨٦/٥٦٠١

مطابع الطوبجى التجارية



عن المؤلف

دكتور / حمزه محمد محمد السيد النخال

ن مواليد القاهرة عام ١٩٤٢م ، حصل على درجة البكالوريوس

العلوم الزراعية من جامعة عين شمس فى مجال علوم الأغذية .

م حصل على درجة الماجستير من نفس الجامعة عام ١٩٦٩م .

م حصل على درجة الدكتوراه فى الفلسفة من جامعة كاليفورنيا

ديفز عام ١٩٧٥م فى مجال علم الأحياء الدقيقة .....

ل بعدد من شركات الأغذية بمصر والولايات المتحدة ـ

مريكية ، كما عمل بالمركز القومى للبحوث بمصر ......

عد فى التدريس فى جامعات عين شمس بمصر و كاليفورنيا

لايات المتحدة والملك فيصل بالسعودية ....

عين أستاذاً مساعداً فأستاذاً مشاركاً بجامعة الملك فيصل

حساء بالمملكة العربية السعودية ، حيث قام بتدريس عدد

المقررات فى مجال علوم الأحياء الدقيقة وعلوم الأغذية

شارك وساهم ورأس عدة لجان فى مؤتمرات علمية فى مصر

الولايات المتحدة والسعودية ، وله العديد من الأبحاث

لمنشورة فى المجلات العلمية المحلية والدولية ......

MICROBIOLOGY

HAMZA EL-NAKHAL

B.Sc. & M.Sc. in Food Science from University of Ain Shams, Egypt.
Ph.D. in Microbiology from University of California, Davis, U.S.A.

1987